

QUELQUES APPLICATIONS DE LA SÉROLOGIE NON SPÉCIFIQUE EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 17 Mars 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Robert Louis MICAL

Né le 24 Avril 1928, à LYON (Rhône)



LYON
BOSC Frères
Imprimeurs-Éditeurs
42, quai Gailleton, 42

1954

QUELQUES APPLICATIONS DE LA SEROLOGIE
NON SPECIFIQUE
EN MEDECINE VETERINAIRE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

QUELQUES APPLICATIONS
DE LA
SÉROLOGIE NON SPÉCIFIQUE
EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 17 Mars 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Robert Louis MICAL

Né le 24 Avril 1928, à LYON (Rhône)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42

—
1954

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur.

M. JUNG.

Professeurs honoraires

BASSET.
DOUVILLE.
CUNY.

PROFESSEURS

Physique, Chimie et Toxicologie, Pharmacie, Hygiène du lait	MM. TAPERNOUX
Anatomie descriptive des animaux domestiques, Tératologie.	TAGAND.
Physiologie, Thérapeutique générale, Matière médicale.	JUNG.
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des viandes	LUCAM.
Parasitologie et Maladies parasitaires, Zoologie appliquée, Botanique, Clinique des maladies parasitaires.	EUZEBY.
Pathologie chirurgicale, Médecine opératoire et Ferrure, Séméiologie, Clinique chirurgicale..	COLLET.
Pathologie médicale des Equidés et des Carnassiers, Séméiologie et Propédeutique, Jurisprudence vétérinaire, Médecine légale, Clinique médicale.	BRION.
Pathologie de la Reproduction, Séméiologie et Pathologie de la reproduction chez les animaux domestiques, Obstétrique, Clinique	BERTRAND.
Maladies microbiennes, Police sanitaire, Microbiologie et pathologie générale, Clinique spéciale.	GORET.
Zootecnie et appréciation des animaux domestiques, aliments du bétail, agronomie et hygiène des animaux, économie rurale	JEAN-BLAIN

CHEFS DE TRAVAUX

MM. BARONE, FERRANDO, JOUBERT, Agrégés
MM. MAGAT, BOST, COULON, FERNEY, FLACHAT

ASSISTANT

M. COTTEREAU.



EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : M. le Professeur SEDALLIAN.
Premier Assesseur : M. le Professeur GORET.
Deuxième Assesseur : M. le Professeur BRION.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

A MA GRAND-MERE

A MES PARENTS

Témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.

Qu'ils soient, par ce modeste travail, remerciés pour tous les sacrifices qu'ils m'ont consentis.

A MON FRERE ET A MA SŒUR

A TOUS MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SEDALLIAN,
de la Faculté de Médecine de Lyon.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la
présidence du Jury de notre thèse.

Hommage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GORET,
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Témoignage de reconnaissance pour ses
conseils et pour la sollicitude qu'il a tou-
jours montrée à notre égard.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRION,
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Qui a bien voulu accepter de participer
à notre Jury.

A MONSIEUR LE DOCTEUR JOUBERT,
Chef de Travaux, agrégé des Ecoles Vétérinaires.

Sincères remerciements pour nous avoir
inspiré ce travail et nous avoir guidé tout
au long de nos expériences de ses judicieux
conseils.

Hommage de reconnaissance pour son
inlassable dévouement.

QUELQUES APPLICATIONS DE LA SEROLOGIE
NON SPECIFIQUE
EN MEDECINE VETERINAIRE

INTRODUCTION

Les méthodes de sérologie non spécifique en médecine humaine ont fait l'objet de très nombreux travaux qui ont permis une mise au point technique presque parfaite, et, partant, une application quotidienne par les laboratoires spécialisés de diagnostics qui viennent ainsi en aide à la clinique.

En médecine vétérinaire, au contraire, les recherches furent peu nombreuses et on se contente d'appliquer souvent sans adaptation les réactifs utilisés chez l'homme au sérum ou au plasma des divers animaux, d'où l'indigence des résultats obtenus.

Dans le but de combler une partie de cette lacune, nous avons entrepris, avec notre condisciple PANISSET, l'étude systématique de la sérologie non spécifique des sérums d'animaux sains, malades ou convalescents des hôpitaux de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon et des animaux producteurs de sérum de l'Institut Mérieux et de l'Institut Français de la Fièvre Aphteuse (Lyon).

Notre étude comprendra trois parties :

1° Dans une première, nous traiterons du *principe de la sérologie non spécifique* destinée à mettre en évidence les perturbations survenues aux constituants normaux du sang au cours de diverses maladies ou de processus d'immunisation.

2° Dans une seconde partie, après avoir rappelé les *techniques classiques*, nous décrirons pour chaque méthode les *modifications* proposées afin d'adapter ces techniques aux exigences imposées par les sérums des animaux.

3° Dans une troisième partie, enfin, nous terminerons par l'étude *des résultats obtenus et des applications possibles* de certaines de ces méthodes en pathologie ou en immunologie.

Nous ne prétendons pas épuiser ce vaste sujet qui mériterait encore d'autres travaux, mais nous espérons les guider sur les points susceptibles de donner des résultats positifs.

Il nous reste maintenant à remercier ici M. le Professeur GORET et M. l'agréé JOUBERT qui, après nous avoir inspiré ce travail, n'ont cessé, par leurs conseils éclairés de nous guider et de nous encourager dans son élaboration.

Nos remerciements vont également à M. le Docteur SANDOR et M. le Docteur VARGUES qui nous ont largement aidé en nous adressant toute la documentation que nous leur avons demandée.

Nous exprimons nos sentiments de gratitude et de reconnaissance à M. le Docteur JOUD qui nous a permis d'utiliser toutes les ressources de son laboratoire et à M. le Docteur PIEGAY qui a bien voulu se charger d'effectuer pour nous les nombreuses mesures nécessaires à l'établissement de nos courbes.

PREMIERE PARTIE

MECANISME PHYSICO-CHIMIQUE DES REACTIONS DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

DÉFINITION DE LA SÉROLOGIE NON SPÉCIFIQUE

On appelle « *Sérologie non spécifique* » l'ensemble des procédés d'analyse indirecte des modifications des constituants sanguins au cours des infections microbiennes ou parasitaires et, d'une façon plus générale, de toutes les perturbations pouvant survenir dans un organisme vivant.

CHAPITRE PREMIER

LES CONSTITUANTS PROTEIQUES DU SANG, DU PLASMA ET DU SERUM

On sait que si l'on abandonne dans un récipient pendant quelques heures du sang fraîchement prélevé, on obtient d'une part une fraction solide : le caillot, constitué par les éléments figurés du sang : hématies et leucocytes emprisonnés dans un réticulum de fibrine et, d'autre part, un liquide plus ou moins citrin suivant les espèces : le sérum. Cette même opération peut d'ailleurs être accélérée par l'artifice de la centrifugation.

Au contraire, si l'on ajoute au sang lors du prélèvement une substance anticoagulante comme l'héparine ou le citrate de soude, le fibrinogène reste en suspension dans le sérum constituant alors le plasma.

A côté des cristalloïdes dont les dosages sortent du cadre de cette étude, il convient de considérer l'ensemble des *colloïdes* présents dans le sérum et dont les proportions réciproques constituent la formule protéique. Grâce à l'électrophorèse, suivant leur vitesse de migration dans un champ électrique, on distingue :

1° Le groupe des *albumines* qui est le plus important quantitativement, mais dont la petitesse des molécules permet un déplacement très rapide. Ces albumines sanguines forment un tout, car leur vitesse de migration est uniforme.

2° Le groupe des *globulines* beaucoup plus complexe puisque, suivant la rapidité de leur déplacement électrophorétique, on peut les subdiviser en trois sous-groupes :

a) les *globulines* γ , dont le volume est le plus important d'où le freinage dans le liquide tampon de TISÉLIUS qui explique leur extrême lenteur ;

b) les *globulines* β , de volume et donc de vitesse intermédiaire ;

c) les *globulines* α , ou *haptoglobines* qui par leur taille et leur vitesse de migration se rapprochent des albumines. (Cf. tableau n° 1).

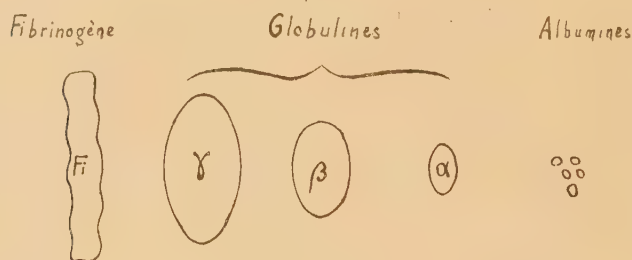


SCHÉMA N° 1

Représentation schématique des protéines plasmatiques, en fonction de leur forme et de leur masse approximatives.

Chacun de ces sous-groupes peut être subdivisé à son tour, grâce à des propriétés particulières des constituants. C'est ainsi, par exemple, que l'on doit considérer dans les globulines α les haptoglobines α_1 et α_2 .

L'haptoglobine α_2 est une globuline sérique de nature glycoprotéidique douée de la propriété de former avec l'hémoglobine une combinaison d'adsorption dont les propriétés peroxydasiques permettent l'évaluation quantitative. Grâce à ce test enzymatique, il est possible de la doser spécifiquement sans séparation électrophorétique préalable

des autres globulines avec une grande précision et une rapidité remarquable.

Nous verrons par ailleurs que toutes ces subdivisions ne sont pas seulement spéculatives, mais que chacun de ces éléments joue un rôle particulier dans le déroulement de la vie d'un être vivant et signe sa lutte continuelle contre les maladies qui s'y développent.

CHAPITRE II

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES PROTEINES SERIQUES

Définition des solutions colloïdales

Si nous envisageons les dispersions possibles de la matière en solution, il est classique, depuis OSTWALD, de distinguer :

— les *solutions vraies* dans lesquelles les molécules de la matière sont du même ordre de grandeur que celle des molécules d'eau considérée comme solvant. Elles comprennent toutes les particules dont les dimensions sont inférieures à $30 \text{ \AA}$;

— les *solutions colloïdales* dont les dimensions des particules sont comprises entre 30 et $3.000 \text{ \AA}$ donc supérieures à celles du solvant ;

— les *suspensions*, qui ne sont plus des solutions proprement dites, car leur taille excédant $3.000 \text{ \AA}$ ne leur permet plus de diffuser et ceci est considéré comme une propriété caractéristique des solutions.

Seules les *solutions colloïdales* retiendront notre attention et il nous semble indispensable de rappeler brièvement leurs principales particularités qui permettent d'expliquer le mécanisme intime des réactions de sérologie non spécifique.

Propriétés des solutions colloïdales

Elles sont doubles :

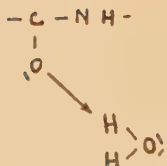
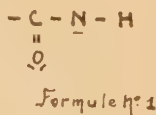
1° L'HÉTÉROGÉNÉITÉ.

Nous pouvons la mettre en évidence très facilement par une expérience de dialyse. Le solvant traverse seul le papier parchemin par exemple, tandis que le colloïde s'accumule contre l'autre face.

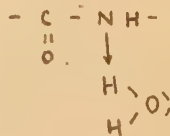
2° LA STABILITÉ.

Cette particularité est essentielle pour la bonne intelligence du mécanisme des réactions de sérologie non spécifique. Aussi nous y attarderons-nous plus longtemps.

Les acides aminés constitutifs des protéines en général et des protéines sériques en particulier présentent dans leur formule chimique des liaisons peptidiques où /O/ et N (1) sont porteurs de doublets libres (formule 1) susceptibles de porter des liaisons H de l'eau (solvant) selon formule 2 ou formule 3.



Formule n° 2

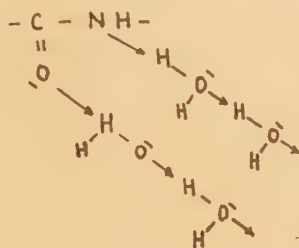


Formule n° 3

(1) Le signe O/ ou N évoque la présence de doublets d'élections libres à la périphérie de l'atome.

Le signe $\rightarrow$ représente, rappelons-le, le troisième type d'union des atomes, la liaison coordinative ou semi-polaire.

Or, /O/ de HOH ayant à son tour deux doublets libres est susceptible de se lier par des liaisons ou ponts d'H à d'autres molécules d'eau, selon formule 4.



• Formule 4

On explique ainsi la présence d'une couche d'eau dite « orientée », mais dont l'épaisseur, quoique plurimoléculaire est néanmoins restreinte du fait de l'agitation moléculaire (cf. schéma n° 2).

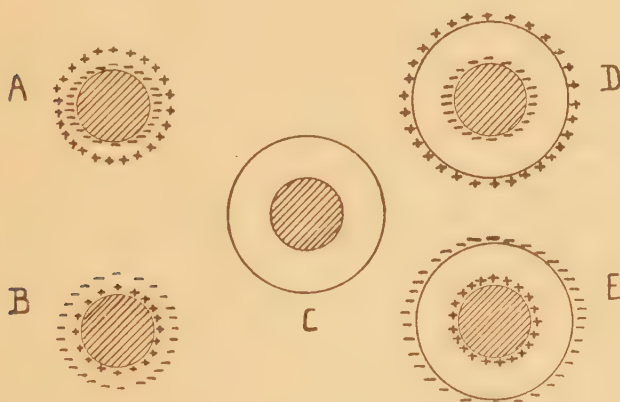


SCHÉMA N° 2

Représentation schématique de la micelle protidique entourée d'une double couche électrisée de signe inverse différemment disposée à la périphérie micellique (A et B), d'une couronne d'eau liée (C), enfin simultanément, d'une double couche électrisée disposée à la périphérie de la micelle et de la couronne d'eau liée (D et E).

Cette existence possible d'eau liée permet de distinguer deux types fondamentaux de colloïdes :

a) *Les suspensoïdes.*

Ils ne présentent pas de liaison avec le solvant et sont appelés *colloïdes lyophobes*. Ils comprennent en particulier les métaux colloïdaux comme l'or ou l'argent et leur viscosité est peu différente de celle du solvant.

D'autre part toute micelle est chargée d'électricité. Si on la place dans un champ électrique, elle subira donc un déplacement soit vers le pôle positif, soit vers le pôle négatif suivant sa charge. Ce principe trouve son application biologique en sérologie non spécifique dans l'électrophorèse que nous n'étudierons pas personnellement.

A priori, les hydrosols contiendraient donc des particules chargées positivement ou négativement suivant les cas. Cependant, expérimentalement, ils se révèlent incapables de décharger l'électroscope ; on peut donc conclure qu'ils sont neutres dans leur ensemble.

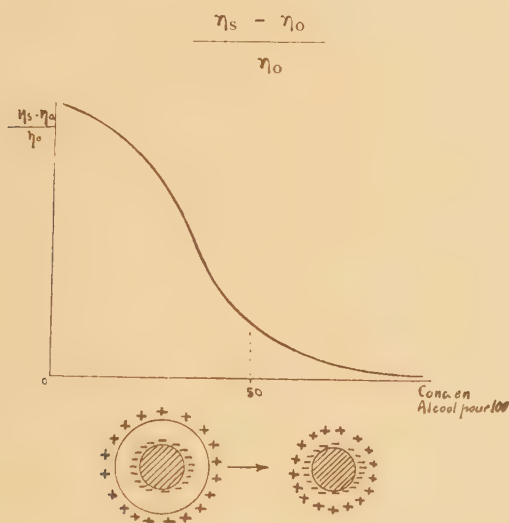
Pour expliquer ce fait paradoxal, HELMOTZ, en 1879, émit une hypothèse selon laquelle chaque micelle est entourée de deux couronnes concentriques de charges électriques de signes contraires : les charges positives pouvant former soit la couronne profonde, soit la couronne superficielle. Pour cet auteur, c'est cette dernière qui détermine le sens de la migration électrophorétique. (Cf. schéma n° 2).

b) *Les émulsioïdes.*

Ils présentent au contraire des liaisons directes avec le solvant. Ce deuxième type de colloïde est dit *lyophile* ou *hydrophile*. Si le solvant est l'eau, les particules sont entourées d'une couche d'eau liée grâce à la présence de ponts hydrogènes autour de leur molécule.

Il en découle en particulier une viscosité plus grande que pour les suspensoïdes et surtout une stabilité supplémentaire due à la couche d'eau associée à la micelle.

1° Donc, si on arrache cette couche d'eau liée, par exemple en introduisant dans la solution d'émulsoïde une substance très hydrophile donc *déshydratante* (l'alcool, par exemple), l'hydrosol devient alors très sensible à l'action des électrolytes d'où une baisse considérable de la viscosité de la solution, ou plutôt de l'accroissement relatif de la viscosité de la solution par rapport à la viscosité du solvant :



COURBE N° 3

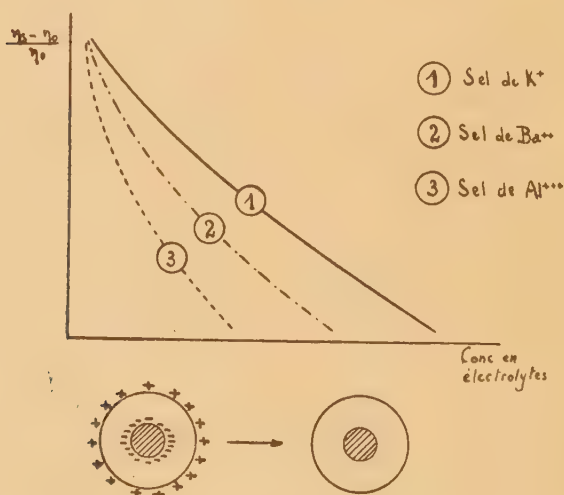
Représentation schématique de la perte de la couronne d'eau liée d'une micelle protidique, sous l'influence d'agents déshydratants à concentration élevée (l'émulsoïde devient suspensoïde).

Cette baisse de la viscosité étant due à la diminution du volume des particules. Pour une concentration d'alcool égale à 50 %, la floculation peut avoir lieu avec l'addition d'une faible quantité d'électrolytes.

A ce stade, l'émulsoïde se comporte comme un suspensoïde par perte de la couronne d'eau liée. Une appli-

cation de cette propriété en sérologie non spécifique paraît se trouver dans la *réaction de Wellman* qui mettrait en jeu l'action déshydratante du Ca Cl_2 . Néanmoins, les concentrations extrêmement faibles de Ca Cl_2 utilisées dans la réaction ne paraissent pas pouvoir logiquement jouer ce rôle ; aussi les solutions de Ca Cl_2 résoudraient leur action à celle des électrolytes.

2° La floculation peut également être obtenue, comme pour les suspensoïdes, par l'*adjonction d'électrolytes*. Par adsorption, en effet, les ions viennent se fixer à la surface de la particule neutralisant ses charges électriques.



COURBE N° 4

Représentation schématique de la perte de la double couche électrisée d'une micelle protéidique, sous l'influence de l'addition d'électrolytes de valences différentes (l'émulsoïde en arrive au point isoélectrique).

Cependant, ici, l'effet d'électroviscosité n'est pas uniquement dû à la double couronne électrique périphérique, car il existe une stabilité supplémentaire causée par la

fréquence de la couronne d'eau associée à la micelle. La floculation ne sera donc possible qu'avec une quantité beaucoup plus grande que dans le cas des suspensoides. D'après la courbe, on constate, d'autre part, que cette quantité d'électrolytes à ajouter est inversement proportionnelle au nombre de valences de l'élément : l'émulsoïde dépouillé de sa double couche électrisée en est arrivé au point isoélectrique.

Application, entre autres, dans la réaction de GROS ou de FULTON au $Hg \cdot Cl_2$, dans la réaction de WUHRMAN et WUNDERLY au $SO \cdot Cd$, dans celle de WELTMAN au $Ca Cl_2$.

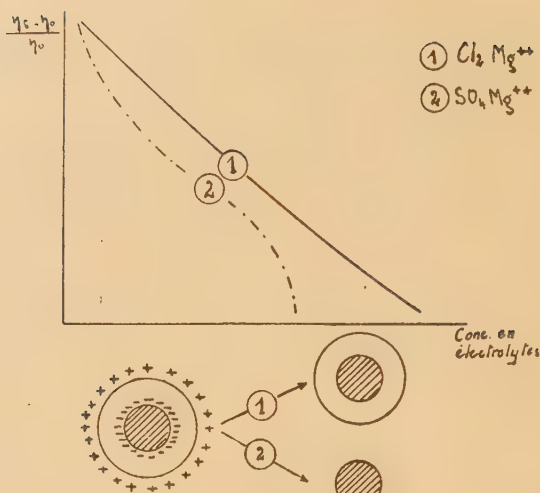
3° Si les électrolytes sont hydrophiles, la floculation a lieu pour des concentrations beaucoup plus faibles. L'instabilité de la molécule de protéine étant due à la fois aux deux causes précédentes qui s'ajoutent.

On assiste donc à une action simultanée : *déshydratation — électrolytes*. Peut-être, mais peu vraisemblablement, ce mécanisme est à invoquer pour expliquer la réaction de WELTMANN.

— $ClMg$ se comporte comme un électrolyte $Mg ++$.

— $SO \cdot Mg$: en plus de l'action de l'électrolyte $Mg ++$, les propriétés déshydratantes du sel, comparables à celles de l'alcool, entraînent une disparition simultanée de la couche d'eau liée : l'émulsoïde en est réduit à sa micelle fondamentale et la dualité des deux actions se manifeste par une courbe en S (cf. courbe n° 5 - 2).

4° Les travaux de LOEB sur les protéines ont montré que ces corps se comportent comme des *électrolytes amphotères*. Elles forment des sels appelés protéinates aussi bien avec les acides qu'avec les bases. Ceci revient à dire qu'elles peuvent *libérer des ions H^+ ou des ions OH^-* . Comme nous allons le voir, elles émettent des H^+ du côté alcalin et, de ce fait, deviennent électronégatives alors que le contraire se produit du côté acide. A la limite elles sont donc dépourvues de charge électrique (*point isoélectrique*).



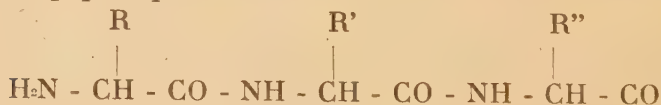
COURBE N° 5

Représentation schématique de l'arrachement simultané de la double couche électrisée et de la couronne d'eau liée d'une micelle protidique, sous l'influence de l'addition d'une solution d'électrolytes douée de propriétés déshydratantes (l'émulsoïde est réduit à la micelle fondamentale).

En effet, comme toutes les protéines, celles du sérum sont constituées par une réunion d'acides aminés identiques ou différents :



ceux-ci formant de très longues chaînes réunies par des liaisons peptidiques.



Les radicaux R, R', R'' pouvant comporter ou non des groupements polaires de deux sortes soit amine - NH_2 soit carboxyle - $COOH$, et par dissociation :



En solution aqueuse, sous forme ionisée, nous aurons en fonction du pH : —NH₃⁺ ou —COO[—]. La micelle est donc hérissée de groupements inversement électrisés affectant une disposition schématique en rayon de lune (cf. schéma n° 6).

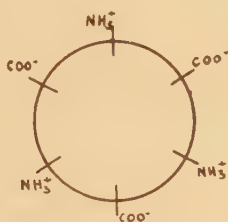


SCHÉMA N° 6

Représentation schématique d'une micelle protidique amphotère hérissée de groupements —NH₃⁺ ou —COO[—] inversement électrisés.

L'influence du pH de la solution se manifeste sur la dissociation des ions amines ou carboxyles selon la loi d'action de masse :

$$\frac{[\text{NH}_2] / [\text{H}^+]}{[\text{NH}_3^+]} = K$$

$$\frac{[\text{COO}^-] / [\text{H}^+]}{[\text{COOH}]} = K'$$

A une température déterminée, K et K' sont constants, donc la dissociation est définie pour une valeur fixe qui est la concentration en ions H⁺. Si nous faisons varier la concentration en ions H⁺, c'est-à-dire le pH, puisque K et K' sont constants, nous obtiendrons les modifications suivantes :

— *En milieu acide*, lorsque le pH décroît, la quantité d'ions H^+ augmente. Il faudra donc que :

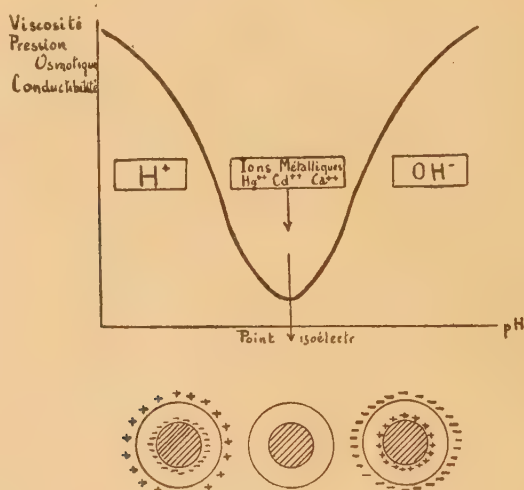
$/NH_2/$ diminue ou $/NH_3^+/$ augmente
 $/COO^-/$ diminue ou $/COOH/$ augmente

La micelle supporte donc une charge positive.

— *En milieu alcalin*, le pH augmente donc la concentration en ions H^+ diminue. Par conséquent :

$/NH_2/$ augmente ou $/NH_3^+/$ diminue
 $/COO^-/$ augmente ou $/COOH/$ diminue

La charge de la micelle est alors négative puisqu'il y a plus de COO^- que de NH_3^+ .



COURBE N° 7

Représentation schématique de l'obtention du point isoélectrique d'une micelle protéique en faisant varier le pH. La suppression de la double couche électrisée s'apprécie par la mesure de la viscosité, de la pression osmotique et *a fortiori* de la conductibilité.

— Entre les deux, pour un pH intermédiaire, un même nombre de charges positives et négatives se trouve sur la

micelle par association équivalente de groupements carboxyles et amines.

Cette démarcation entre les deux zones acide et alcaline a reçu le nom de « *point isoélectrique* ». La charge globale de la micelle est alors nulle. Elle présente seulement une couche d'eau protectrice ; sa déshydratation par les *sels neutres*, sel de Cu^{++} , de Pb^{++} , Hg^{++} , ou par l'*alcool* est donc facile et une précipitation de la micelle se produit.

L'apparition de flocons peut d'ailleurs dans certains cas être précédée par la formation d'agrégats encore liquides. Cet état intermédiaire s'appelle la *coacervation* et deux phases sont en présence :

— Une phase où les micelles sont faiblement concentrées.

— Une phase où les micelles sont fortement concentrées = *coacervat*.

Mais ensuite la floculation se produit. SANDOR en se basant sur cette propriété des protéines à leur point isoélectrique a réussi à mettre au point une technique très sensible permettant de précipiter successivement toutes les protéines sériques et de les doser. Nous verrons par la suite l'importance de cette méthode appelée *Fiche Réticulo-Endothéliale* (F.R.E.) et sa place prépondérante en sérologie non spécifique.

Le schéma n° 8 résume les modifications évoquées dans les chapitres précédents à une micelle protéique sous l'influence de l'addition d'électrolytes, de déshydratants ou de variations de pII. Ces traitements représentent approximativement ceux que font subir aux sérums normaux ou pathologiques les réactifs utilisés en sérologie non spécifique.

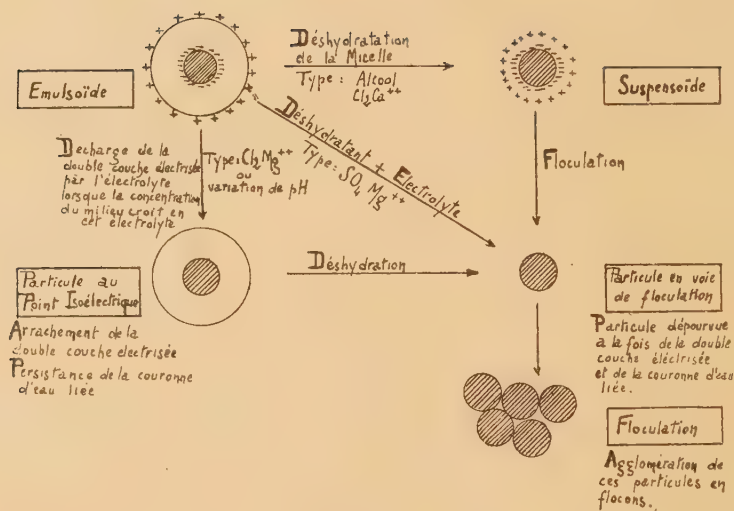


SCHÉMA N° 8

Représentation graphique résumant les modifications infligées à la double couche électrisée ou à la couronne d'eau liée d'une micelle protéique sous l'influence de l'addition d'électrolytes, de déshydratants ou de variations de pH.

CHAPITRE III

PRINCIPE ET CLASSIFICATIONS DES REACTIONS DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

Principe général

Depuis l'origine et jusqu'au début du ^{xx}^e siècle, les méthodes de sérologie non spécifique furent découvertes et ensuite mises au point d'une façon totalement empirique. De très nombreux tests furent essayés par l'adjonction au sérum et au plasma de produits chimiques et biologiques divers. Chaque fois que l'on obtenait une précipitation ou une floculation on procédait à une analyse qui avait pour but de mettre en évidence la nature de la ou des protéines précipitées.

En effet, les troubles humoraux consécutifs à certains états physiologiques (grossesse, immunité) ou pathologiques (maladies diverses) peuvent tenir :

- soit à l'apparition d'une *protéine inédite, anormale*, jamais décelée dans les humeurs normales ;

- soit à la conservation des *protéines normales, dont les rapports réciproques se trouvent perturbés*, certaines se raréfiant et d'autres augmentant leur taux, d'après des systèmes d'équilibre et de balance réciproques mal élucidés, mais dont une part au moins revient à l'homéostasie, à la conservation de l'isotonie humorale.

Dès lors, on s'ingénie à placer le sérum suspect dans des conditions physico-chimiques qui permettent de révéler

la présence de cette protéine anormale hypothétique ou la perturbation de l'équilibre des constituants humoraux normaux. Ces conditions ne doivent alors ne donner, en aucun cas, des manifestations dans un sérum reconnu normal. Il découle de cette restriction que toutes les additions d'électrolytes, de substances chimiques où les variations de pH ne peuvent être retenues en tant que réactions de sérologie non spécifique.

Classifications

A. — CLINIQUE.

D'après la *nature des protéines (sériques ou plasmatiques) révélées* par les réactions de sérologie non spécifique on peut en donner une classification « *clinique* ».

a) Réactions portant sur le sérum :

1° Etude des globulines γ :

- Réaction de BENETT FULTON et de GROS au sublimé.
- Séro gel de GATÉ et PAPACOSTAS.

2° Etude des globulines γ et β :

- Réaction de MAC LAGAN au thymol.
- Réaction de HANGER à la céphaline cholestérine.

3° Etude des globulines γ , β et α :

- Bande de coagulation de WELTMAN au Ca Cl_2 .
- Réaction de WULERMAN et WUNDERLY au SO.Cd .

4° Etude des globulines γ , β , α et des albumines :

- Réaction de SANDOR ou fiche réticulo-endothéliale (F.R.E.).

- Electrophorèse.
- Mesure de la densité des sérums.

b) *Réactions portant sur le Plasma :*

- Plasma gel.
- Mesure de la densité du plasma.

c) *Réactions portant sur le sang total :*

- Viscosimétrie : Vitesse de sédimentation globulaire (V.S.G.).
- Densimétrie : Mesure de la densité du sang. (Cf. tableaux n^{os} 9 et 10).

Une fois qu'il connaît la nature des protéines révélées par ces réactions, le biologiste procède à l'étude d'un très grand nombre de sérums sains qui lui permettent de déterminer d'une façon statistique leurs quantités moyennes dans l'état hygiène tout en situant les limites des variations physiologiques. Ce n'est que grâce à la possession de ces résultats qu'il peut commencer l'étude des sérums pathologiques, les valeurs trouvées ne pouvant s'interpréter que d'une façon relative par différence en plus ou en moins.

Cependant les progrès de la chimie biologique, en entraînant une connaissance beaucoup plus complète des propriétés des protéines sériques, que nous avons brièvement résumées dans le chapitre précédent, orientèrent les recherches pour la découverte de nouvelles méthodes. Pour illustrer ce fait, il suffit de citer la technique simplifiée de la Fiche Reticulo-Endothéliale de SANDOR, mise au point par VARGUES, en se basant sur l'action du pH des solutions sur la formule colloïdo-chimique du sérum.

Le fait que l'interprétation des résultats apportés par les différents tests de sérologie non spécifique n'est que relative nous indique bien que l'on obtiendra rarement un diagnostic certain. Cependant ils mettront en évidence à quel groupe de maladies peut se rattacher l'état pathologique étudié d'autant plus que leur simplicité et leur rapidité d'exécution leur permettront de rentrer un jour dans la pratique courante.

Pour obtenir une plus grande certitude, on pourra d'ailleurs toujours faire appel à plusieurs méthodes d'où l'étude comparative systématique que nous avons tenté sur de nombreux cas dans l'espoir de faire ressortir un tout.

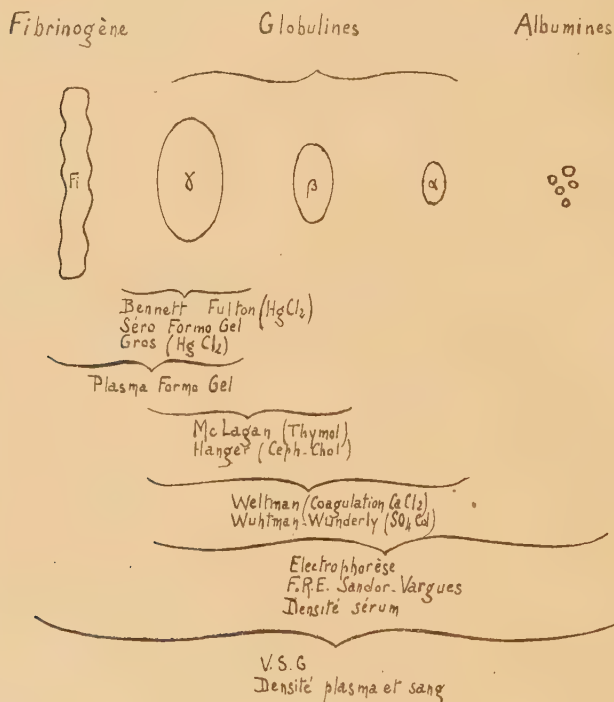


SCHÉMA N° 9

Représentation schématique de la nature des protéines que révèlent les diverses réactions de sérologie non spécifique.

B. — PHYSICOCHIMIQUE.

Si l'on s'en tient exclusivement au mécanisme physicochimique intime de ces réactions, on peut en faire deux parts :

I. — Réactions physiques :

1° Réaction tenant à la déshydratation.

2° Réaction tenant à l'addition d'électrolytes et notamment de sels de métaux lourds.

3° Réaction tenant à la fois à la déshydratation et à l'addition d'électrolytes.

4° Réaction tenant aux variations de pH.

5° Réaction associant la viscosité spontanée du milieu.

REACTIONS	REVELATION DES PROTEINES (Classif. clinique)					MECANISME D'ACTION PHYSICO- CHIMIQUE (Classification physico-chimique)								
	Chimique	Globulines				Electrolytes	Déshydratantes	Electrolytes + Déshydratantes	P H	Viscosité spontanée				
		γ	β	α	Albumines									
Benett FULTON } GROS		+				Physique + (précipitation par sels de métaux lourds)								
WUHRMAN et WUNDERLY au SO ₄ cd		+	+	+		+ (précipitation par sels de métaux lourds)								
GATE et PAPACOSTAS Séro Formo Gel	(1) +	+							+ ?					
Mac LAGAN - Thymol test	+	+	+						+ ?					
WELTMAN au Ca Cl ₂		+	+	+		+ (adsorption de Ca ⁺⁺)								
HANGER = Céphaline - Cholestérine	(2) +	+	+											
SANDOR ou Fiche réticulo- endothéliale (F. R. E.)		+	+	+	+				+					
Vitesse de sédimentation sanguine (V S C)		+	+	+	+					+				
Densité du sang et du sérum		+	+	+	+					+				

(1) Blocage des fonctions-NH₂.

(2) Formation de complexes lipoprotidiques peu solubles.

Tableau synoptique montrant, d'une part, le mécanisme d'action physicochimique des diverses réactions de sérologie non spécifique et, d'autre part, les modifications protéiniques (albumines et globulines γ , β ou α) que ces réactions permettent de révéler dans le sérum des individus anormaux.

II. — Réactions chimiques :

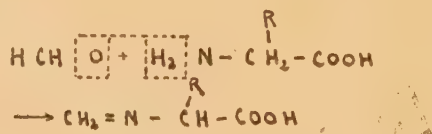
1° Réaction tenant à la formation de complexes moins ou peu solubles ;

2° Réaction tenant à la suppression après réactions chimiques de certains radicaux électriquement actifs ;
dont la plupart des actions s'interpénètrent en *réactions physico-chimiques*.

Le tableau n° 10 résume le mécanisme physico-chimique des principales réactions de sérologie non spécifique utilisées par nous.

Si l'on excepte la mesure de la viscosité plasmatique ou sérique grâce à la V.S.G., ou la mesure de la densité des humeurs par la méthode de PHILIPS et VAN SLYKE, on reconnaît deux types de réactions *physiques* : la floculation par l'addition de sels de métaux lourds ou de Ca^{++} d'une part, par des variations de pH d'autre part.

Les réactions *chimiques* sont plus complexes. Elles ressortissent soit à la complexion de certaines protéines avec la céphaline cholestérine ou le thymol, soit au blocage des $-\text{NH}_2$ primaires par le formol, selon :



Le remplacement de $-\text{NH}_2$ par $-\text{N} = \text{CH}_2$ fait pratiquement disparaître la possibilité d'ionisation de $-\text{NH}_2$ (cas, par exemple, du titrage des acides aminés par la méthode de SØRENSEN). Ainsi, cette réaction *chimique* équivaut à une modification *physique* dans la capacité d'ionisation des protéines.

DEUXIEME PARTIE

TECHNIQUES DES REACTIONS DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

Nous allons maintenant brièvement examiner ces différents tests. Premièrement, tels qu'ils sont appliqués dans les laboratoires des hôpitaux, chez l'homme, puis ceux que nous avons personnellement utilisés. Chaque fois, en effet, qu'une de ces techniques ne nous aura donné que des échecs, nous tenterons de proposer une variante s'adaptant mieux aux sérums animaux.

Nous adopterons pour cet exposé un plan non plus physico-chimique, mais *clinique* en nous basant sur la nature des protéines dont les perturbations sont révélées par telle réaction de sérologie non spécifique. (Cf. schéma n° 9).

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUES CLASSIQUEMENT UTILISEES EN MEDECINE HUMAINE

I. — Révélation des globulines γ

1° RÉACTION DE GROS.

Réalisation.

On prépare la solution suivante (solution de HAYEM) :

Bichlorure de mercure . .	0,50 gramme
Sulfate de soude cristallisé	5 grammes
Chlorure de sodium	2 grammes
Eau distillée q.s. pour	200 grammes

On place 1 cm³ du sérum à étudier dans un tube à essai auquel on ajoute le réactif goutte à goutte jusqu'à obtention d'un louche durable ne disparaissant plus par agitation.

Lecture.

Normalement, il est nécessaire d'ajouter 2 à 3 cm³ de la solution pour obtenir le louche. En dessous de 2 cm³ la réaction est d'autant plus anormale, donc les protéines sériques d'autant plus perturbées que la quantité de solution ajoutée est moindre.

2° RÉACTION DE GATÉ ET PAPACOSTAS OU SÉRO-FORMOGEL RÉACTION.

Principe.

- Mise en évidence de l'hyperglobulinémie γ ;
- Avec le plasma, en plus de l'augmentation en globulines γ , on juge également celle du fibrinogène (Fi).

Réalisation.

On place dans un tube à essai 1 cm³ du sérum à étudier, puis on ajoute 2 gouttes de formol à 40 % (formol du commerce).

Lecture.

La lecture a lieu après agitation du mélange. Si, au bout de quelques instants, le sérum se prend en masse, il existe une hyperglobulinémie.

Cette réaction primitivement utilisée pour le diagnostic de la syphilis est positive dans le Kala-Azar. BING s'est livré à l'étude de 3.697 sérums d'individus sains et ses conclusions furent les suivantes : si la lecture de la réaction est faite après 30 minutes, on trouve moins d'un cas positif sur 1.000. Si on étudie la formation du gel après trois heures : 2 pour 100 seulement des réactions sont positives. Souvent même, on se fixe six heures comme délais limites.

II. — Révélation des globulines γ et δ .

1° RÉACTION DE MAC LAGAN ou Thymol test.

2° RÉACTION DE HANGER à la céphaline-cholestérine.

Méthodes non décrites dans ce chapitre, car elles furent utilisées sans modification.

III. — Révélation des globulines α , β et γ

1° BANDE DE COAGULATION DE WELTMAN AU Ca Cl_2 .

Principe.

Le sérum humain dilué au 1/50^e avec de l'eau bidistillée ne coagule plus par la chaleur. Pour que la coagulation se produise, il est nécessaire d'ajouter une certaine quantité de chlorure de calcium. On détermine donc le *seuil de coagulation du sérum dilué en présence de concentrations croissantes de chlorure de calcium*. Normalement, il se situe entre 0,20 et 0,25 %, mais, pathologiquement, il peut être augmenté ou diminué. Cette réaction sert à apprécier les variations relatives des globulines γ *par rapport* aux globulines α et représente donc un élément de comparaison plus complet pour ces deux types de globulines.

Réalisation.

On prépare une solution-mère en dissolvant 99 grammes 14 de Ca Cl_2 cristallisé ($\text{Ca Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dans 1.000 cm³ d'eau bidistillée donnant ainsi une concentration de 5 %. On introduit alors successivement dans onze flacons numérotés de 1 à 11 : 1 cm³ - 0,9 cm³ - 0,8 cm³ - 0,7 cm³ - 0,6 cm³ - 0,5 cm³ - 0,4 cm³ - 0,35 cm³ - 0,30 cm³ - 0,20 cm³ - 0,10 cm³ de la solution-mère de chlorure de calcium et l'on complète ensuite chaque flacon à 100 cm³ avec de l'eau bidistillée, donnant les concentrations suivantes pour 1.000 : 0,50 - 0,45 - 0,40 - 0,35 - 0,30 - 0,25 - 0,20 - 0,175 - 0,150 - 0,10 - 0,05 p. 1.000.

La réaction est alors réalisée avec 11 tubes en verre Pyrex dans lesquels on mesure 0,10 cm³ du sérum à étudier et 5 cm³ de la solution « fille » correspondante.

Après agitation, les 11 tubes numérotés sont placés au bain-marie bouillant où ils sont laissés 15 minutes exactement.

En retirant les tubes après ébullition on les divise en deux catégories :

— la première, de 1 à x , comprend les tubes où il ne s'est formé qu'un louche dont l'intensité *croît* à mesure que diminue la concentration en chlorure de calcium ;

— la seconde, de x à 11, comprend les tubes où il ne s'est formé qu'un louche dont l'intensité *décroît* à mesure que diminue la concentration en Ca Cl_2 .

Lecture.

La plupart des auteurs qui ont expérimenté cette méthode de sérologie non spécifique ont conclu que, *normalement*, la coagulation s'arrête aux tubes n^{os} 6 ou 7 qui représentent ainsi les limites des variations physiologiques pour les sérums humains.

Si, pour un sérum pathologique, on trouve un seuil de coagulation, correspondant au numéro d'un tube inférieur à 6, c'est-à-dire par exemple dans le tube n^o 3, on dit que la bande de WELTMAN est *raccourcie* ou *déviée à gauche* (*hypoglobulinémie* γ coïncidant avec une hypoglobulinémie α).

Au contraire, si le seuil de coagulation se situe par exemple dans le tube n^o 9 et contenant par conséquent une plus faible concentration en chlorure de calcium : la bande de WELTMAN est dite *allongée* ou *élargie*, ou *déviée à droite* (*hyperglobulinémie* γ coïncidant avec une hyperglobulinémie α).

2^o RÉACTION DE WUHRMAN ET WUNDERLY AU $\text{SO}_4 \text{ Cd}$.

Principe.

Mise en évidence de l'augmentation des globulines d'un sérum (hyperglobulinémie globale).

Réalisation.

Placer 0,40 cm³ du sérum à étudier dans un tube et ajouter 4 gouttes d'une solution de sulfate de cadmium (SO₄Cd, 8H₂O) à 4 pour 100 à l'aide d'un compte-gouttes du Codex d'un diamètre de 3 mm., c'est-à-dire donnant XX gouttes à 15° pour 1 cm³ d'eau distillée.

Dans ces conditions, les sérums humains normaux ne donnent pas de trouble. Si un louche apparaît, il signe une augmentation globale des globulines du sérum.

IV. — Révélation des albumines et globulines totales

1° LA FICHE RÉTICULO-ENDOTHÉLIALE DE SANDOR (F.R.E.).

En 1950, G. SANDOR et J.-Ch. WEIL-FAGE, du Service de Chimie Physique de l'Institut Pasteur de Paris, publiaient une méthode d'analyse entièrement originale de la formule colloïdo-chimique des sérums.

Principe.

C'est un *diagramme de solubilité des protéines sériques* en fonction du pII et dont les données convenablement interprétées permettent de caractériser certains états pathologiques.

Réalisation.

Il s'agit de dresser les courbes représentatives des variations de la solubilité des protéines sériques en fonction du pII et pour cela, il faut amener le sérum par dialyse à une force ionique suffisamment faible, mais cependant déterminée et à un pII de départ légèrement alcalin.

Le sérum est séparé du caillot par centrifugation, quelques heures après la saignée et traité dans les cinq jours qui suivent l'opération.

5 cm³ de sérum au minimum sont mis à dialyser sous pression contre un excès (2 litres en général) d'une solution de phosphate tampon de CLARK et LUBBS M/75, de pH 7,6 à 7,7. Au bout de cinq heures de dialyse environ, le dialysat est remplacé par le même tampon dilué de moitié (donc M/150) et la dialyse est continuée sous une épaisse couche de toluène de préférence à la glacière pendant 48 heures. Lors de cette dialyse préliminaire un précipité se forme que SANDOR a appelé « Englobuline I₁ ». Il est recueilli par centrifugation, lavé une première fois avec 1 ou 2 cm³ de dialysat (avec lesquels on a au préalable rincé le dialyseur) et ces premières eaux de lavage sont ajoutées aux eaux-mères. Le précipité d'englobuline I₁ est lavé une seconde fois dans les mêmes conditions et dosé par Microkjeldahl.

Le sérum est ensuite dilué dans de l'eau distillée exactement au 1/4 de son volume de départ, toutes les mesures de volume étant effectuées par pesée au trébuchet à 5 mg. près. Quinze à vingt minutes après la dilution du sérum, on centrifuge 2 à 3 minutes à 6.000 tours par minute. Le liquide est alors filtré sur papier et l'on récupère également les particules de précipité qui se sont déposées sur les parois. L'ensemble du précipité ainsi formé est dissous dans de l'eau physiologique à 1 pour 1.000 et dosé également par Microkjeldahl. On vérifie également le pH au potentiomètre et le volume des eaux-mères au trébuchet.

On ajoute ensuite de l'acide chlorhydrique H Cl N/20 à l'aide d'une burette au 1/50^e de cm³ lentement par fractions séparées, en agitant continuellement la solution, aussi longtemps que des précipités se forment en quantités sensibles, en attendant au moins 10 minutes entre chaque acidification avant d'éliminer le précipité formé.

Les volumes d'acide chlorhydrique N/20 sont calculés de manière que le pH, en général de 7,5 à 7,6 au départ, soit amené à 4,90 environ, limite des précipitations des englobulines sériques humaines en 9 à 10 acidifications successives.

Chaque fois le précipité formé est séparé par centrifugation et son taux est déterminé séparément par dosage d'azote.

On établit alors la somme des précipités obtenue pour un pH donné pour 100 du poids total des précipités. Cette valeur ainsi exprimée en pourcentage est portée en ordonnée. Les pH correspondants le sont en abscisse, permettant ainsi d'obtenir une courbe de lecture facile.

Lecture.

L'étude de nombreux sérums humains, grâce à la F.R.E., a permis à SANDOR d'établir une courbe typique de l'état hygide dont la remarquable constance lui permit d'envisager l'examen des sérums pathologiques et d'en dégager, comme nous le verrons, de précieux renseignements sur l'état des systèmes producteurs de protéines sériques.

2° VITESSE DE LA SÉDIMENTATION GLOBULAIRE (V.S.G.).

Principe.

La V.S.G. est la vitesse de chute des hématies au sein du plasma préalablement rendu incoagulable puis leur tassement en un culot surmonté de plasma.

Techniques : a) de CESARI :

Addition de fluorure de sodium à raison d'1 cm³ pour 9 cm³ de sang d'une solution isotonique à 3 %. Le mélange est placé dans un long tube vertical mesurant 8 mm. de diamètre environ.

La vitesse de chute est exprimée par le rapport entre le chemin parcouru par les globules pendant la première demi-heure de leur descente sur le trajet total effectué en 24 heures.

b) *de* WESTERGREEN :

— Tube vertical également, mais de faible diamètre : 2,5 mm. L'anticoagulant est constitué par une solution isotonique de citrate de soude à 3,80 %.

— On procède d'heure en heure à la lecture de la hauteur du plasma surnageant.

c) *de* LINZEN MEYER :

Utilisation d'un tube de 3 à 4 mm. de diamètre, en position verticale portant des graduations de 6 en 6 mm.

Dans cette méthode on mesure le temps nécessaire pour que le niveau de séparation entre le plasma et les éléments figurés arrive à 6 puis à 12 et enfin à 18 millimètres.

La vitesse de sédimentation se définit ici par le temps exprimé en minutes, nécessaire aux globules rouges pour atteindre le niveau de 18 millimètres. Mais le gros inconvénient de la méthode réside dans la nécessité d'une observation longue et continue.

d) *De la sédimentation centrifugée :*

BARBIER et PICQUET, en 1935, utilisant une centrifugeuse tournant à 500 tours par minute obtiennent en 10 minutes le chiffre horaire classique.

3° MESURE DE LA DENSITÉ DU SANG, DU PLASMA OU DU SÉRUM.

Cette méthode étant celle que nous avons utilisée, nous la décrirons dans le chapitre suivant.

CHAPITRE II

TECHNIQUES DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE REALISEES DANS NOS RECHERCHES

I. — Révélation des globulines γ

1° RÉACTION DE GROS.

Recherches personnelles.

Sérum de cheval sain âgé de 5 ans.

Dans un tube contenant 1 cm³ de sérum, nous ajoutâmes de la solution classique goutte à goutte jusqu'à concurrence de 6 cm³ sans qu'aucun louche n'apparaisse.

Mais au bout de 10 minutes, en reprenant le tube dans lequel a été réalisée cette expérimentation on put constater la formation d'un louche abondant et homogène.

Trente minutes après l'adjonction du réactif, une floculation se produit suivie, une heure après, d'un tassement en culot au fond du tube avec éclaircissement du liquide surnageant.

--- Reprenant la réaction dans les mêmes conditions, les mêmes résultats furent obtenus avec les sérums de 18 vaches et 15 chevaux en bonne santé.

Modification proposée pour les sérums animaux.

Notre but était de déterminer la quantité optimum de solution de HAYEM à ajouter à 1 cm³ de sérum pour obtenir un louche comparable à celui que l'on obtient chez

l'homme et cela dans un temps donné puisque la réaction n'est pas instantanée.

Réalisation pour cela d'une gamme de réactions à l'aide d'une série de tubes contenant 1 cm³ de sérum plus une quantité croissante de réactif.

T A B L E A U N° II

N° des tubes	1	2	3	4	5	6
Solution de HAYEM	0,5 cc	1 cc	1,5 cc	2 cc	2,5 cc	3 cc
Sérum	1 cc	1 cc	1 cc	1 cc	1 cc	1 cc
Résultats au bout de 15 minu- tes : (Cheval Chien	- -	- -	+ -	++ +	+++ ++	+++ +++

Chez le *cheval*, les essais ayant porté sur 15 sérums ont montré qu'à l'état physiologique le tube n° 4 contenant 2 cm³ de réactif marque un seuil puisque les tubes 1, 2, 3 restent inchangés tandis que le n° 4 présente un trouble supérieur à celui du tube n° 7 de la gamme de Mestrezat. Précipitation abondante dans les tubes n°s 5 et 6.

Chez le *chien*, le seuil physiologique est représenté par le tube n° 5.

Avec les sérums de *Bovin*, la méthode classique fut absolument négative. En se plaçant dans les conditions préconisées pour les sérums de cheval et de chien, on obtient de très grandes variations dans les quantités de réactifs et dans les temps. Alors que certains formaient un louche dès la 5^e minute avec 0,5 ou 1 cm³ de réactif, d'autres restèrent négatifs pendant plus de 30 minutes avec des doses de réactifs supérieures à 5 cm³ ; c'est le cas, par exemple, d'une génisse charollaise âgée de 2 ans, indemne de toute lésion à l'abattage.

2° RÉACTION DE GATÉ ET PAPACOSTAS AU FORMOL OU FORMOGEL.

Notre expérimentation a porté sur environ 150 sérums d'animaux sains, malades convalescents ou hyperimmunisés des espèces suivantes : bovine, équine, asine, ovine, porcine, canine et féline, suivant les données de médecine humaine.

La réaction s'est révélée positive chez le chien et dans deux cas seulement et ceci lui confère une valeur dans le diagnostic différentiel des maladies canines.

— *Leishmaniose canine* et dans ce cas elle doit rentrer en pratique courante chez les spécialistes de médecine canine du Midi de la France et surtout d'Afrique du Nord où la maladie sévit d'une façon endémique.

— *Atteinte hépatique* très prononcée, à la phase terminale.

Il en ressort que compte tenu des indications désormais classiques de ce test en matière d'anémie infectieuse des équidés, la réaction paraît avoir un intérêt spécial en pathologie *équine et canine*.

II. — Révélation des globulines γ et δ

1° RÉACTION DE MAC LAGAN OU THYMOL TEST.

Principe.

Si l'on ajoute à une solution saturée de thymol à pH 7.8 quelques gouttes de sérum on obtient un trouble dans tous les cas où les globulines γ sont fortement augmentées et en particulier au cours de l'atteinte parenchymateuse du foie.

Réalisation.

Utilisation du réactif suivant :

Véronal sodique	1,03	gramme
Véronal	1,38	gramme
Thymol cristallisé	3	grammes
Eau distillée q.s. pour 500 cc.		

On place dans un tube 6 cm³ de la solution tamponnée et filtrée de thymol et 0,10 cm³ de sérum très frais. Après agitation on laisse en contact pendant 20 minutes.

Lecture.

La lecture de l'intensité du trouble qui s'est développé est réalisée à l'électrophotomètre de Vernes par différence entre l'essai sérum et un témoin constitué par la solution tampon de thymol filtré.

Par cette technique, les sérums humains d'individus sains ne donnent qu'un trouble léger correspondant à des valeurs inférieures à 50 divisions de l'électrophotomètre.

Dans les ictères par hépatite, le trouble est beaucoup plus intense : il peut atteindre 200, 500 divisions et même davantage. Dans ces derniers cas, il faut préalablement réaliser une dilution convenable.

Résultats avec les sérums d'animaux sains :

— Dans l'ensemble le trouble formé est beaucoup plus faible ;

— Chez les équidés et les bovidés, les limites des variations sont 7 et 11 ;

— Chez le chien et le porc, nous avons toujours trouvé des chiffres compris entre 4 et 7.

2° RÉACTION DE HANGER A LA CÉPHALINE-CHOLESTÉRINE.

Principe.

Mise en évidence de l'augmentation des γ globulines. Il se produit en effet entre les euglobulines de certains sérums pathologiques et une suspension aqueuse de cépha-

line-cholestérine une floculation mutuelle que l'on évalue en fonction de son intensité.

Réalisation.

Le réactif est obtenu à partir de cervelles de moutons secondairement traitées au cholestérol. A l'aide d'un bécher gradué à 30 cm³, on chauffe 35 cm³ d'eau distillée jusqu'au début de l'ébullition. On retire du feu et l'on verse goutte à goutte en remuant à l'aide d'un agitateur 0,5 cm³ de la solution de céphaline-cholestérol. Le mélange est porté à l'ébullition jusqu'à réduction du volume à 30 cm³.

On place alors dans un tube à essai :

Sérum frais	0,2 cm ³
Eau physiologique à 8,5 p ^r 1.000.	4 cm ³
Suspension d'antigène	1 cm ³

Après agitation on laisse reposer 24 heures à l'obscurité.

Lecture.

— Une réaction fortement positive se traduit par la clarification complète du liquide avec formation d'un flocculat cotonneux au fond du tube.

— La réaction est, au contraire, négative lorsqu'il ne se produit aucun changement dans l'aspect du tube qui présente des ondes moirées lorsqu'on agite.

Cependant si la réaction est négative après 24 heures, il y a lieu d'attendre encore 24 heures avant de donner une réponse définitive.

Expérimentation sur les sérums animaux.

Tous nos essais sur les sérums sains ou pathologiques, quelle que soit l'espèce envisagée furent négatifs. En aucun cas une floculation ou même une clarification du mélange ne put être perçue.

Cependant la complexité de la préparation de l'antigène ne nous a pas permis par tâtonnement de rechercher

des proportions pouvant s'appliquer aux animaux. Seuls quelques laboratoires spécialisés, possédant un personnel qualifié sont en mesure de le préparer suivant la méthode classique.

III. — Révélation des globulines α , β et γ

1° BANDE DE COAGULATION DE WELTMAN.

Recherches personnelles sur les sérums animaux.

La première série d'expérimentations fut réalisée avec les données de la médecine humaine appliquée aux sérums frais des animaux suivants :

- 2 chevaux sains ;
- 2 vaches saines et 2 vaches tuberculeuses ;
- 1 chien sain, 1 chien tuberculeux et 1 chien convalescent de maladie de Carré ;
- 1 porc sain ;

et se traduisit par un échec complet. *Aucun tube ne présenta la moindre trace de coagulation.* L'extrapolation directe en médecine animale des réactions utilisées en médecine humaine était donc impossible.

Voulant vérifier tout d'abord qu'elle était la sensibilité du sérum des animaux à la coagulation par la chaleur suivant les dilutions en eau bidistillée par rapport au sérum humain, nous réalisâmes une gamme de mélange sérum-eau distillée donnant les dilutions successives :

$$1/2^{\circ} - 1/5^{\circ} - 1/10^{\circ} - 1/15^{\circ} - 1/20^{\circ} - 1/25^{\circ} - 1/30^{\circ} \\ 1/35^{\circ} - 1/40^{\circ} - 1/45^{\circ} - 1/50^{\circ}.$$

Nous utilisâmes pour cela les sérums de deux sujets sains des quatre espèces précédentes.

Les résultats furent parfaitement concordants : *aucun de ces sérums de cheval, bœuf, chien et porc ne coagula après exposition durant 15 minutes au bain-marie bouillant à une dilution dans l'eau distillée supérieure à 1/2.*

Par tâtonnements successifs, nous réussîmes cependant à trouver une bande de coagulation dont les résultats sont comparables à ceux obtenus avec les sérums humains.

Modification proposée.

Il suffit de mettre en présence des 5 cm³ de réactif au Cl₂Ca de chaque tube une quantité de sérum *dix fois plus importante, c'est-à-dire 1 cm³.*

En opérant dans ces conditions bien définies le seuil moyen de coagulation pour les diverses espèces est le suivant :

Cheval	tube n° 5
Vache	tube n° 5
Chien	tube n° 2
Porc	tube n° 1

2° RÉACTION DE WUHRMAN ET WUNDERLY.

Recherches personnelles.

— Sérum frais d'une jument saine âgée de 12 ans.

Dès l'adjonction de la *première goutte* de réactif, il se produit un louche important avec flocculation. Le même résultat est obtenu avec le plasma de cet animal.

— Sérum frais d'un cheval hongre âgé de 6 ans.

Réaction positive pour *une seule goutte*.

— Toutes les autres expériences sur les équidés furent toujours positives avec une goutte de réactif. Seul un âne âgé de 15 ans ne réagit qu'avec deux gouttes.

— Sérums frais de trois vaches âgées de 5 ans environ.

Alors que le trouble ne se manifeste pour le premier sérum que lorsque l'on a mis *III gouttes* de la solution cadmique pour les deux autres *une seule suffit*.

Modification proposée.

Tandis que les sérums humains normaux ne donnent pas de trouble pour IV gouttes de la solution de sulfate de cadmium à 4 %, les sérums des animaux paraissent être beaucoup plus sensibles.

Dans le but de rendre cette réaction utilisable, nous avons *dilué au dixième la solution classique* dans de l'eau distillée ce qui nous donne un *titre de 4 pour 1.000*.

Avec ce nouveau réactif qui nous permet d'avoir une gamme de variations plus étendue, nous entreprîmes de déterminer un certain nombre de seuils de précipitation permettant de fixer les limites du physiologique.

Il nous est apparu que l'on pouvait considérer comme pathologique tout sérum donnant une réaction positive avec moins de VI gouttes de solution cadmique.

IV. — Révélation des albumines et globulines totales

1° LA FICHE RÉTICULO-ENDOTHÉLIALE DE SANDOR.

Le reproche principal que l'on puisse faire à la méthode précédemment décrite réside dans sa complexité et dans la longueur de sa réalisation qui peut rebuter le chercheur ou qui tout au moins réservent son application à un personnel spécialisé pourvu d'un matériel de haute précision d'où son incompatibilité absolue avec une application clinique quotidienne.

Aussi les disciples de SANDOR, devant les remarquables résultats obtenus par ce dernier, portèrent leurs efforts sur une simplification très poussée de l'établissement de la F.R.E.

A peu près simultanément deux auteurs décrivirent les techniques suivantes :

1° Méthode néphélométrique d'ADNER.

— Il remplace tout d'abord la dialyse par la dilution.

— Au dosage d'azote il substitue l'évaluation néphélométrique des quantités de protéides précipités.

— Au lieu d'éliminer ces protéides au fur et à mesure de leur formation, ADNER dose les quantités totales de protéides précipités pour un pH donné.

— Enfin les diagrammes sont représentés tels quels en portant directement en abscisse les valeurs néphélométriques obtenues sans les avoir transformées au préalable comme SANDOR en précipitabilité pour 100.

2^e Technique néphélométrique simplifiée de VARGUES.

Nous allons l'exposer d'une façon beaucoup plus complète, car c'est elle que nous avons utilisée systématiquement dans l'étude des sérums animaux.

Principe.

Les globulines sériques qui sont réparties dans les groupes électrophorétiques γ , β , α se distinguent entre elles par leur point isoélectrique, c'est-à-dire par le pH pour lequel leur solubilité est minimum en l'absence d'électrolytes. Pour cela on dilue le sérum dans une solution de force ionique faible et en amenant les dilutions à divers pH on provoque pour chacune de ces valeurs la précipitation des euglobulines de point isoélectrique voisin du pH obtenu. C'est ainsi que les sérums humains normaux donnent :

- Aucun précipité à pH : 7,6 ;
- Début de précipitation des euglobulines à pH : 7 ;
- Précipité maximum à pH : 6,7 à 7 ;
- Diminution de la quantité du précipité jusqu'à pH : 4,5 ;
- - Euglobulines solubles pour un pH inférieur.

La courbe obtenue en portant en abscisse les valeurs des pH et en ordonnée les quantités de protéides à une forme en cloche pouvant s'interpréter de la même manière que les courbes sigmoïdes de SANDOR.

Réalisation.

Préparation d'une solution tampon de SÖRENSEN (M/150 en phosphate) de pH 7,6. A partir de celle-ci on réalise une gamme de 8 tubes à essais contenant 0,50 cc de sérum, 10 cc de la solution tampon et des quantités croissantes d'acide chlorhydrique N/20.

Après agitation du contenu des tubes, on les laisse reposer 30 minutes.

Pour le dosage, deux méthodes sont possibles :

— Centrifugation pour recueillir le précipité et mesure par Microkjeldahl ;

— Soit beaucoup plus simplement employer la mesure néphélométrique.

Chaque fois, on mesure le pH au potentiomètre.

Comme nous le démontrerons plus loin, *cette méthode s'applique directement aux sérums d'animaux*. Mais nous utilisâmes 12 tubes au lieu de 8, ce qui nous permit de suivre plus facilement la conformation de la courbe (tableau n° 12).

TABLEAU N° 12

N° des tubes	I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Quantité de tampons en cc.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Sérum en cm. 3	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
HCl N/20 en cm. 3	0	0.50	0.75	0.90	1	1.10	1.25	1.40	1.55	1.70	1.90	2.10
pH	7.60	7.50	7.40	7.35	7.30	7.20	7.10	6.90	6.45	5.35	4.85	4.20

Cependant, nous constatâmes que le pH des solutions variait rapidement. En conséquence, sur les conseils de R. VARGUES, nous utilisâmes le tampon universel de BRITTON et ROBINSON, beaucoup plus stable.

Composition :

Acide phosphorique pur	3,92 gr.
Acide acétique pur	2,40 gr.
Acide borique pur	2,48 gr.
Eau distillée q.s. pour	1.000 cc.

Ce tampon est utilisé à la dilution suivante :

Tampon de BRITTON et ROBINSON... 1 partie
Eau distillée 7 parties

La variation du pH est obtenue par l'adjonction d'une solution de soude N/20.

Réalisation de la gamme (tableau n° 13) :

TABLEAU N° 13

N° des tubes	I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tampons au 1/8 en cm. 3	10.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Soude N/20 en cm. 3	3	2.50	2.25	2	1.75	1.50	1.25	1	0.75	0.50	0.25	0
Réactif en cm. 3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Sérum en cm. 3	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
pH obtenus	8.10	7.10	6.75	6.20	5.40	4.90	4.60	4.15	3.55	3.10	2.90	2.65

Les valeurs néphélométriques des quantités de protéines précipitées par variation de l'acidité de la solution tampon sont appréciées d'une façon relativement précise à l'électrophotomètre de Vernes par différence entre l'opacité produite dans le tube étudié et celle de la solution tampon.

Pour pouvoir étudier la fiche réticulo-endothéliale et ses variations pathologiques chez les animaux, il fallait tout d'abord établir les courbes étalons à partir de sujets sains. Pour cela nous prélevâmes du sang sur 15 individus de chaque espèce qui nous permirent d'adopter une valeur moyenne qui servit ensuite de base pour toutes nos expériences.

La première constatation qui s'impose en comparant les courbes des sérums animaux et celles établies par VARGUES pour l'homme est que les courbes des sérums des animaux sont nettement déplacées vers l'acidité.

Alors que le maximum de précipitation chez l'homme se produit pour un pH voisin de 6,7, nous l'avons obtenu :

Chez le chien, pour un pH voisin de	5
Chez le porc et le cheval, à	4,75
Chez la vache, à	4,25

2° LA VITESSE DE SÉDIMENTATION GLOBULAIRE.

Nous avons choisi la technique de la mesure de la V.S.G. en tube incliné.

L'accélération de la chute des hématies dans un tube incliné fut mise en évidence par FUENTE-HITA qui constata qu'en utilisant un tube incliné à 45° les globules rouges humains mettaient quatre fois moins de temps pour atteindre le même niveau.

Cependant, d'une étude systématique du sang de 76 chevaux sains réalisée par GORET, JOUBERT et BEAUREAU, il ressort que, si chez ces animaux la chute des hématies est plus rapide et encore d'une façon toute relative pendant les premières 25 minutes, dans la demi-heure suivante, au contraire, le tube vertical présente un tassement plus intense.

L'influence de l'inclinaison du tube pour la sédimentation du sang de cheval nous semble beaucoup moins grande que celle annoncée par FUENTE-HITA avec le sang humain. La même constatation s'impose pour le *chien* et le *porc* ainsi que nous l'avons vérifié personnellement.

Au contraire, pour les sangs de *bovins* qui sédimentent très difficilement et très lentement, la méthode du tube incliné entraîne une certaine accélération du processus, surtout si l'on substitue comme anticoagulant une solution de *liquoïde Roche* au citrate de soude.

3° MESURE DE LA DENSITÉ DU SANG, DU PLASMA OU DU SÉRUM.

C'est une méthode dont le principe et la réalisation sont très simples et qui permet d'évaluer à partir d'une très faible quantité de ces liquides, leur densité. Elle fut mise au point par PHILIPS, VAN SLYKE et COLL qui prétendent obtenir une très grande précision.

Pour couvrir toute la gamme des densités, on prépare 15 flacons dans lesquels on place une *solution saturée de sulfate de cuivre* et des quantités croissantes d'eau distillée. Chaque solution « fille » est titrée avec un densimètre de précision de façon à ce qu'elles s'étagent de 1,015 à 1,075 en différant l'une de l'autre de 0,004.

Il suffit ensuite de laisser tomber une goutte de sang d'une hauteur de 1 cm. environ dans chaque récipient contenant la solution. Il se forme alors autour de la goutte de sang une mince pellicule de protéinate de cuivre qui l'isole de la solution pendant quelques secondes. Trois cas peuvent alors se présenter :

1° La goutte de sang tombe au fond du flacon : sa densité est donc supérieure à celle de la solution ;

2° La goutte de sang, après avoir plus ou moins pénétré au sein du liquide, remonte en surface où elle demeure : dans ce cas, sa densité est inférieure à celle de la solution de sulfate de cuivre ;

3° Dans un récipient, la goutte pénètre lentement grâce à l'énergie cinétique acquise pendant sa chute de 1 centimètre dans l'air libre, mais celle-ci est absorbée par les forces de frottement de la pellicule de protéinate de cuivre entourant la goutte de sang contre les molécules de la solution de sulfate de cuivre. Ainsi, après avoir parcouru 2 à 3 centimètres, elle s'immobilise. Il suffit alors de lire la densité de la solution contenue dans ce flacon pour connaître celle du sang examiné.

Pour le plasma ou le sérum, la méthode est exactement superposable.

Comme anticoagulant, on utilisera soit l'héparine à raison de 0,2 cm³ pour 10 de sang, soit plus simplement 1 milligramme par cm³ du mélange :

Oxalate d'ammoniaque	3 parties
Oxalate de potasse	2 parties

Ainsi, en opérant suivant cette méthode sur de nombreux animaux (opération aisée vu la rapidité des lectures), une fois que l'étalonnage est réalisé, nous avons obtenu les valeurs moyennes suivantes :

— Sang total :

Cheval	1,058
Vache	1,054
Chien	1,054
Porc	1,058
Furet	1,050

— Sérums ou plasma :

Cheval	1,027
Vache	1,023

Malheureusement, l'ampleur des variations physiologiques, bien supérieures à toutes celles que l'on a pu trouver en étudiant les sérums pathologiques, rend cette méthode inutilisable en médecine vétérinaire.

TROISIEME PARTIE

APPLICATIONS DES METHODES DE SEROLOGIE
NON SPECIFIQUE

RESULTATS — DISCUSSION

CHAPITRE PREMIER

RESULTATS SUR LES SERUMS HUMAINS

Les affections frappant un organisme sain, entraînent un bouleversement de l'ensemble de celui-ci, retentissant qualitativement et quantitativement sur ses divers constituants humoraux. Certaines de ces modifications sont d'ailleurs facilement visibles à l'examen même superficiel de l'individu permettant de poser sans hésitation le diagnostic *clinique* de la maladie.

D'autres, au contraire, ne peuvent pas être interprétées par les méthodes courantes d'investigation. C'est le cas de celles qui se manifestent au sein du « milieu intérieur » de Claude BERNARD, mais dont l'étude procure des données très importantes du point de vue diagnostique ou même pronostique. Celle-ci ressortissant du domaine du laboratoire.

Parmi les modifications que l'on rencontre dans les constituants du sérum, il convient de distinguer :

— les constituants anormaux ne préexistant pas à l'affection ;

— les protéides sériques déjà vus précédemment dont les quantités varient d'une façon absolue par augmentation ou diminution, ou même d'une façon relative les unes par rapport aux autres *y compris les anticorps*, en général rangés parmi les γ globulines.

L'expérimentation a montré que les variations du rapport globulines-albumines sont banales en pathologie, presque toujours caractérisées par une très faible diminu-

tion du taux de l'albumine. Ces variations se retrouvent pour ainsi dire dans toutes les affections. Aussi, les éléments spécifiques sont apportés par la distribution proportionnelle des diverses espèces globuliniques.

Du travail de SANDOR, il ressort que le sérum contient une globuline spéciale en très faible quantité dans les sérums normaux appelée euglobuline I. Ce protéide est caractérisé :

1° Par ses propriétés physico-chimiques : c'est une *gamma globuline* de mobilité réduite. ($V = 0,8 \cdot 10^{-5}$ à pH 7,6) appelée pour cette raison « globuline γ lente » par les Américains et de point isoélectrique très alcalin : 7,2.

2° Par ses propriétés immunologiques : c'est le support des précipitines et agglutinines.

3° Par son caractère pathologique ; on ne la trouve qu'à un taux très bas dans les sérums normaux.

Le taux de cette euglobuline constitue une donnée indépendante. Il demeure constant dans de nombreuses toxi-infections graves (pneumonie, broncho-pneumonie, méningite tuberculeuse) alors qu'il augmente constamment dans la fièvre typhoïde et dans les hépatites infectieuses. Or, les bacilles typhiques par leur affinité bien connue pour les voies biliaires doivent aussi toucher le tissu hépatique. SANDOR donne l'explication suivante : les antigènes entrent en contact directement et d'une manière quasi exclusive avec les systèmes macrophagiques puissants du foie et de la rate. Les macrophages qui phagocytent des antigènes désagrègent une partie de leur protoplasme par le processus de clasmocytose connu depuis RANVIER. Il y a donc tout lieu de croire que l'euglobuline I qui apparaît dans toutes les conditions où la clasmocytose des macrophages est excitée, n'est autre que le *protoplasme des macrophages ainsi désintégrés*.

Cette euglobuline spéciale est obtenue dans un état proche de la pureté par dialyse du sérum pendant 48 heures, contre une solution de tampon phosphate M/150 en phosphate de pH : 7,6.

Malheureusement, la méthode simplifiée de VARGUES, pour l'établissement de la fiche réticulo-endothéliale, par acidification progressive du milieu tampon ne nous a pas permis d'individualiser cette euglobuline qui se confond dans nos résultats avec les autres euglobulines γ (Eu_m).

En résumé, on admet classiquement cinq types de variations portant sur les protéines plasmatiques et appelées par JAYLE « formules colloïdo-chimiques du plasma ».

Expression clinique	Expression sérologique	Types de Signification pathologique
Insuffisance hépatique	Séro plasmagel $\oplus$ Fulton Wuhman et Wunderly $\oplus$ Hanger - Mac Lagan $\oplus$ Bande de Weltman élargie	Hypo Fi } Hyper γ } Hypoprotéinémie Hypo Alb. }
Néphrite chronique	Bande Weltman très raccourcie	Fi normal ou augmenté } Hypoprotéinémie Hypo Albumines } et γ }
Leucémie Septicémie lente Plasmocytose γ réactionnelle	Séro Plasmagel $\oplus$ Fulton $\oplus$ Hanger - Mac Lagan $\oplus$ Bande de Weltman élargie	Fi normal } Hyper γ } Hyperprotéinémie Hypo Albumine }
Pneumonie aiguë fibrineuse 2 phases $\begin{cases} \nearrow \gamma \text{ normal} \\ \searrow \text{augmentation réactionnelle des } \gamma \end{cases}$	Début : Weltman rétrécie Fin : Weltman élargie	Hyper α et Fi γ normales au début γ augmentées à la fin
Tuberculose chronique	Dé- (Weltman élargie but (Fulton-Serogel $\oplus$ Fin : Weltman rétrécie	1ère phase : Défense γ augmentées α diminuées 2ème phase : Abdication γ diminuées α augmentées

Nous devons maintenant mentionner à part les résultats fournis par la fiche réticulo-endothéliale. Etant trop récente elle n'a pas pu être appliquée à toutes les maladies et l'interprétation des résultats peut encore subir quelques variations.

VARGUES, se basant sur l'étude de 300 sérums de malades, décrit six types de F.R.E. :

- 1° Hyperplasie : paludisme, Kala-Azar.
- 2° Hyper-gamma-euglobulinémie (cirrhose hépatique, maladie d'Osler, tuberculose pulmonaire).
- 3° Hyper-bêta - euglobulinémie : athérosclérose, néphrose lipoïdique.
- 4° Type mixte alpha-bêta - euglobulinémie : néphrites.
- 5° Type mixte alpha - bêta - gamma euglobulinémie : amylose, épanchements.
- 6° Hyper - alpha euglobulinémie : néphroses.

Tout ceci à la lumière des travaux de JAYLE peut se résumer de la façon suivante :

1° Lors d'affections dont l'évolution est caractérisée par la *chronicité*, comme par exemple la tuberculose pulmonaire, on dénote *une augmentation des α globulines* en rapport avec l'étendue de la ou des lésions évoluant vers la généralisation.

2° Dans les maladies infectieuses *aiguës*, on retrouve une *hyper γ globulinémie* résultant de l'incitation du système réticulo-endothélial à fabriquer des anticorps.

L'élévation du taux des γ globulines présente, d'autre part, une grosse importance dans l'élaboration du pronostic de l'évolution d'une maladie, car elle met en évidence que l'organisme se défend contre l'agent perturbateur. Ce taux est donc très élevé dans le sérum des individus convalescents.

CHAPITRE II

RESULTATS SUR LES SERUMS D'ANIMAUX EN PATHOLOGIE

Pour réaliser cette étude, nous avons prélevé nos sérums sur des animaux des hôpitaux de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon et sur des bovins aux Abattoirs de Lyon-La Mouche.

Dans tous les cas, le diagnostic clinique était secondairement vérifié par l'autopsie après abattage. De son côté, notre condisciple PANISSET procédait à une analyse électrophorétique complémentaire de chaque sérum afin de contrôler systématiquement nos résultats.

Notre expérimentation a porté sur des :

- maladies microbiennes ;
- maladies parasitaires ;
- états pathologiques divers.

Chaque fois, nous avons en plus pris des sérums témoins sur des animaux reconnus sains à l'autopsie pour pouvoir établir des comparaisons.

I. — Maladies aiguës

a) MICROBIENNES

- a) *Maladie de Carré expérimentale chez le chien.*
- b) *Peste porcine expérimentale chez le porc.*

Dans les deux cas, les sujets étudiés avaient reçu une inoculation expérimentale d'ultra-virus ce qui nous assurait un diagnostic certain. Les prises de sang furent faites lors de la forme septicémique, seul moment où l'on puisse considérer ces maladies comme pures. Les microbes secondairement surajoutés et entraînant une broncho-pneumonie ou une gastro-entérite faussant les résultats par leur manque de spécificité.

Aucune modification n'a pu être mise en évidence dans les diverses réactions précédemment décrites par rapport aux sérums normaux.

6) PARASITAIRES

— *Piroplasmose canine.*

Dans ce cas également, la rapidité d'évolution du processus empêche l'apparition de modifications décelables au sein du sérum des animaux.

γ) ETATS PATHOLOGIQUES DIVERS

— *Chiens sains ayant subi un choc traumatique violent.*

L'examen fut réalisé sur des chiens accidentés, présentant des fractures dues à des collisions avec des automobiles.

Le tracé de leur fiche réticulo-endothéliale suivant la méthode simplifiée de VARGUES est obtenu en joignant les différentes valeurs des précipités portées en ordonnées, évaluées à l'aide de l'électrophotomètre de Vernes ordonnées de la courbe correspondant au pH de chacun des 12 tubes de la gamme (abscisses de la courbe).

Avec un sérum normal on obtient une courbe en cloche dont le sommet correspond à une valeur du pH toujours la même. Ce résultat est constant au sein d'une même espèce et nous l'avons indiqué dans la deuxième partie.

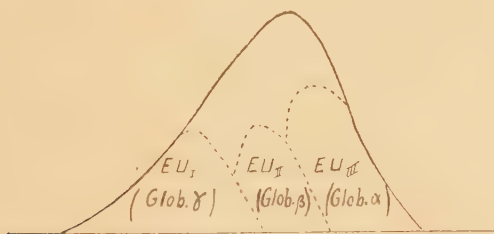
Avec un sérum *anormal*, on peut constater :

1° Une *augmentation ou une diminution quantitative globale des précipités*. On obtiendra une courbe dont le sommet ou clocher sera plus ou moins élevé que le précédent : il s'agit d'une *hyper* ou *hypoglobulinémie*.

2° Une *augmentation ou une diminution partielle des précipités* (augmentation des globulines γ qui précipitent pour un pH élevé par exemple ; la courbe traduisant ces résultats verra son maximum déplacé vers la *région alcaline* (courbe *alcalinisée*) donc vers la *gauche* conventionnellement.

Inversement, si les globulines α précipitent en plus grande quantité les plus grandes valeurs néphélométriques seront trouvées pour les tubes correspondants à un pH bas. Le sommet de la courbe se trouvera donc dans cette zone et l'on dira qu'elle est déplacée vers la *droite* ou « *acidifiée* ».

Dans le cas des chiens en état de choc traumatique, la fiche réticulo-endothéliale obtenue montre une *augmentation des α globulines* plus ou moins importante, mais que l'on retrouve dans tous les cas (courbe n° 15).



COURBE N° 15

F.R.E. Chien ayant subi un choc traumatique.

Les autres réactions de sérologie non spécifiques sont inchangées.

II. — Maladies chroniques

a) MICROBIENNES

Nous avons pris pour type la tuberculose dans les deux espèces et sous les formes les plus couramment rencontrées en pratique vétérinaire quotidienne.

a) *Pleurésie tuberculeuse du chien :*

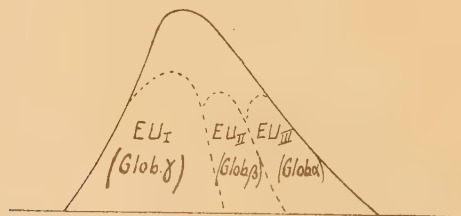
— Accélération de la vitesse de sédimentation globulaire. Celle-ci fut appréciée par comparaison avec du sang de chiens sains pris comme témoins. Cette méthode relative nous a semblé bien préférable aux méthodes absolues pour le chien et le bœuf.

— Bande de coagulation de WELTMAN élargie.

La moyenne des coagulations obtenues pour les sérums étudiés se situe au tube n° 5 alors que c'est le tube n° 2 avec les chiens sains.

Ceci caractérise au début de la maladie une défense de l'organisme, les animaux supportant assez bien pendant des mois l'évolution lente de la tuberculose pleurale qui ne devient apparente pour le propriétaire que lorsque l'épanchement produit une gêne mécanique à la respiration rendant tout effort impossible sans risque de syncope asphyxique.

— Fiche réticulo-endothéliale (cf. courbe n° 16).



COURBE N° 16

F.R.E. Chien pleurésie tuberculeuse.

On constate un léger déplacement de la courbe vers l'alcalinité traduisant une augmentation des euglobulines I de SANDOR donc des γ globulines.

Toutes les autres réactions de sérologie non spécifique sont négatives, c'est-à-dire inchangées par rapport aux sérums des animaux témoins. D'ailleurs, pour toutes les autres maladies, nous nous contenterons de citer celles qui furent positives omettant les résultats normaux par rapport aux témoins.

b) *Tuberculose pulmonaire bovine forme miliaire :*

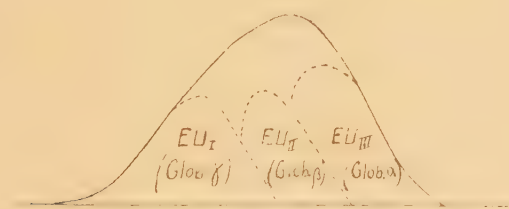
— Vitesse de sédimentation globulaire accélérée par rapport aux sangs témoins.

— Bande de coagulation de WELTMAN rétrécie.

Alors que la coagulation moyenne des sérums de bovins s'étend jusqu'au tube n° 5, elle ne se produit plus que jusqu'au tube n° 2.

— Fiche réticulo-endothéliale (courbe n° 17).

Courbe normale mais augmentée grâce à la présence des γ globulines signant une abdication de l'organisme. Cliniquement d'ailleurs et surtout à l'autopsie on pouvait constater une tendance à la généralisation du processus tuberculeux.



COURBE N° 17

F.R.E. Vache tuberculose miliaire.

6) MALADIES PARASITAIRES

a) *Leishmaniose canine* :

— Bande de coagulation de WELTMAN très élargie. Les 11 tubes de la gamme sont coagulés.

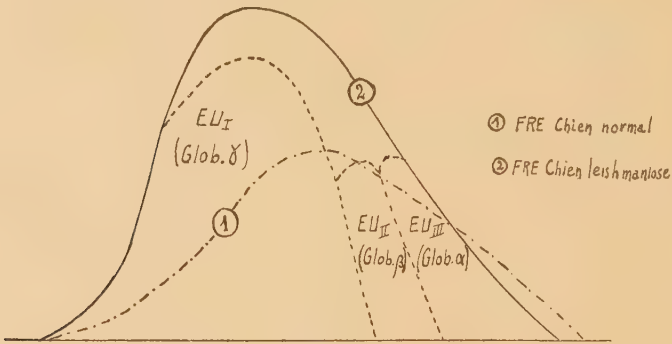
— Séro formogel positif.

Gélification presque instantanée du sérum surtout dans les formes avancées et non traitées par la chimiothérapie.

— Réaction de MAC LAGAN fortement positive.

Valeur néphélométrique de l'opacification égale à 108 degrés Vernes.

— Fiche réticulo-endothéliale (courbe n° 18).



COURBE N° 18

F.R.E. Chien leishmaniose.

Déplacement de la courbe des précipitations vers l'alcalinité avec un maximum pour un pH égal à 6,20 au lieu de 4,90 pour les chiens témoins.

Cette courbe est d'autre part démesurément augmentée à cause de l'existence de globulines γ réactionnelles en très grande quantité.

b) *Fasciolose hépatique des bovidés.*

L'autopsie des cadavres les plus atteints montrait une cirrhose hépatique très avancée accompagnée souvent d'ictère sur les muqueuses explorables.

— Séro gel positif.

— Bande de coagulation de WELTMAN élargie au moins jusqu'au tube n° 7.

— Réaction de WUHRMAN et WUNDERLY positive.

— Fiche réticulo-endothéliale traduisant une légère augmentation des globulines γ entraînant un faible déplacement vers l'alcalinité.

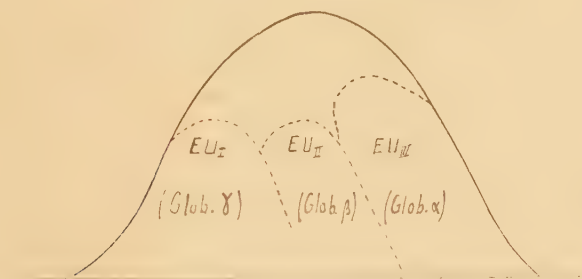
γ) ETATS PATHOLOGIQUES DIVERS

a) *Urémie chez le chien :*

— Bande de coagulation de WELTMAN rétrécie.

Aucun tube n'est coagulé.

— Fiche réticulo-endothéliale (courbe n° 19).



COURBE N° 19
F.R.E. Chien urémie.

Déplacement de la courbe vers l'acidité traduisant une prépondérance des euglobulines III de SANDOR, c'est-à-dire des globulines α .

b) *Cas d'un cancer du foie chez un chat.*

Les résultats obtenus ne sont certainement pas dus au cancer proprement dit, mais à la transformations anarchique des cellules hépatiques et à la cirrhose mise en évidence à l'autopsie. L'animal présentait un ictère jaune orangé sur les muqueuses et sur le conjonctif sous-cutané :

— Réaction de Gros positive.

— Bande de coagulation de WELTMAN rétrécie contrairement aux données classiques concernant les états d'insuffisance hépatique : seul le tube n° 1 présentait une floculation et pas de coagulation.

Cependant, le fait que l'expérimentation n'a pu porter que sur un seul cas, ne nous permet pas de conclure.

— Fiche réticulo-endothéliale.

Légère déviation vers l'alcalinité et valeur générale des précipitations diminuée due à une prépondérance des globulines γ par baisse des β et des α .

CHAPITRE III

RESULTATS SUR LES SERUMS D'ANIMAUX EN IMMUNOLOGIE

I. — SÉRUM ANTIMICROBIEN.

Type : *Sérum de cheval immunisé contre le rouget du porc.*

Notre expérimentation a porté sur les quatre chevaux de l'Institut Mérieux, dont les noms suivent : « Homard », « Homélie », « Hâbleur » et « Hercule ».

- Bande de coagulation de WELTMAN élargie jusqu'au tube n° 7.

— Fiche réticulo-endothéliale (cf. courbe n° 20).

Très nette augmentation du clocher de la courbe qui se trouve reportée dans la zone alcaline signant l'importance des euglobulines γ dans les sérums antimicrobiens.

Cependant, en examinant sur un même croquis les quatre courbes obtenues avec les sérums de ces chevaux, nous remarquâmes que deux s'écartaient nettement de la valeur moyenne obtenue avec les deux autres.

1° Cheval « Homard », forte augmentation des euglobulines précipitées.

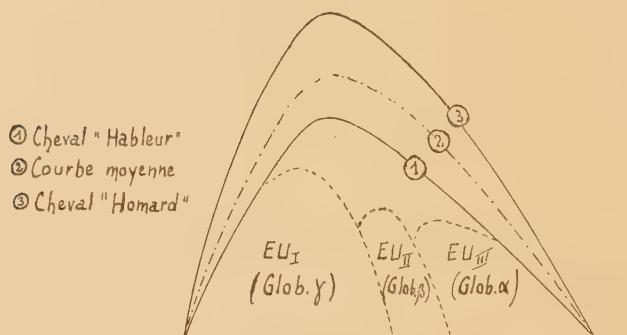
2° Cheval « Hâbleur », diminution des euglobulines.

Nous demandâmes au laboratoire de procéder à un titrage sur souris de ces quatre sérums.

Les résultats reçus correspondaient exactement à ceux fournis par la fiche réticulo-endothéliale.

« Homard » présentait un sérum avec plus de 200 unités souris dans son sérum.

« Hâbleur » avait, au contraire, un sérum beaucoup plus pauvre en anticorps et ne titrait qu'entre 100 et 150 unités souris.



COURBE N° 20

F.R.E. Chevaux donneurs de sérum anti-rouget.

Si de tels résultats se confirmaient, il semblerait donc que la méthode de SANDOR par la rapidité de son exécution pourrait rendre de grands services dans le dosage des sérums produits par les Instituts spécialisés. Au moins pour le dégrossissage préalable, les dernières précisions restant au titrage *in vivo*.

II. — SÉRUM ANTI ULTRA-VIRUS.

Type : Sérum de chien hyperimmunisé contre la maladie de Carré.

Pour notre étude, nous prélevâmes chaque semaine du sang à quatre chiens pendant les trois mois que dura leur immunisation afin de réaliser toute la série des tests sérologiques.

Celle-ci fut absolument négative et aucune variation ne put être enregistrée par rapport aux quatre chiens témoins.

III. — SÉRUM ANTITOXIQUE.

Type : *Sérum de cheval hyperimmunisé contre la toxine tétanique.*

Résultats négatifs également qui confirment la classification des globulines donnée par SANDOR en pseudo-globulines et euglobulines ; ces dernières seules pouvant être mises en évidence. Or, classiquement on admet que dans les sérums antitoxiques l'action est due à l'augmentation des pseudo-globulines β_2 non précipitables dans les conditions où l'on place les sérums.

CHAPITRE IV

RESUME SYNOPTIQUE DES RESULTATS PAR ESPECE ANIMALE

TABLEAU N° 21

A. — CHEZ LE CHIEN.

	MALADIE	F.R.E.	WELTMAN	WUHRMAN & WUNDERLY	SEROGEL	GROS	Mac L&G&N	Séd. Globu- laire	HANGER
	Normal	pH : 4,90	n° 2	Norm.	0	0	0	Norm.	0
Maladies Aigues	M. de Carré	pH : 4,90	n° 2	id.	0	0	0	Norm.	0
	Piroplas- mose	pH : 4,90	N° 2	id.	0	0	0	Norm.	0
	Choc Trau- matique	Hyper	n° 2	id.	0	0	0	Norm.	0
Maladies Chroniques	Pleurésie Tub.	Hyper pH : 5,80	Elargie n° 5	id.	0	0	0	Accé- lérée	0
	Leishma- niose	Hyper pH : 6,20	Très Elargie n° II	id.	++	0	++	Norm.	0
	Urémie	Hyper α	Rétrécie n° 0	id.	0	0	0	Norm.	0
Immunologie	Sér. Anti Carré	pH : 4,90	n° 2	id.	0	0	0	Norm.	0

TABLEAU N° 22

B. — CHEZ LE PORC.

	MALADIE	F.R.E.	WELTMAN	WUHRMAN & WUNDERLY	SEROGEL	GROS	Mac LAGAN	Séd. Globu- laire	HANGER
	Normal	pH : 4,60	n° 0	Norm.	0	0	0	Norm.	0
Maladie Aiguë	Peste	#	#	Norm.	0	0	0	Norm.	0

TABLEAU N° 23

C. — CHEZ LE BŒUF.

	MALADIE	F.R.E.	WELTMAN	WUHRMAN & WUNDERLY	SEROGEL	GROS	Mac LAGAN	Séd. Glob.	HANGER
	Normal	pH : 4,15	n° 5	Norm.	0	0	0	Norm.	0
Maladies Chroniques	Tubercu- lose Miliaire	Hyper α	Rétré- cie n° 2	Norm.	0	0	0	Accélérée	0
	Fasciolo- se hépatique	Hyper γ	Elargie n° 7	++	+	0	0	Norm.	0

TABLEAU N° 24

D. — CHEZ LE CHEVAL.

	MALADIE	F.R.E.	WELTMAN	WUHRMAN & WUNDERLY	SEROGEL	GROS	Mac LAGAN	Séd. Glob.	HANGER
	Normal	pH : 4,60	n° 5	Norm.	0	0	0	Norm.	0
Immunologie	Sér. Anti Microbien Rouget	Hyper γ	Elargie n° 7	id.	0	0	0	Norm.	0
	Sér. Anti toxique Tétanos	pH : 4,6	#	id.	0	0	0	Norm.	0

TABLEAU N° 25

E. — CHEZ LE CHAT.

	MALADIE	F.R.E.	WELTMAN	WUHRMAN & WUNDERLY	SEROGEL	GROS	Mac LAGAN	Séd. Glob.	HANGER
	Normal	pH : 4,90	n° 2	Norm.	0	0	0		0
Maladie Chronique	Cancer hépatique	Hypo x. 1/2	Rétrécie n° 0	Norm.	0	++	0	#	0

CHAPITRE V

DISCUSSION

VALEUR DES METHODES DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

Malgré tous les essais d'adaptation que nous avons tentés, les techniques de sérologie non spécifique n'en conservent pas moins une valeur inégale :

a) Certaines paraissent inutilisables :

— La mesure de la densité du sang, du plasma et du sérum. Les variations physiologiques des résultats, au sein d'une même espèce, dépassent ceux que nous avons enregistrés au cours des diverses maladies étudiées.

— La réaction de HANGER à la céphaline cholestérine qui ne nous a jamais donné de résultats positifs ; peut-être une adaptation plus étroite serait désirable.

6) D'autres semblent avoir un emploi clinique limité par le fait qu'elles ne peuvent s'appliquer qu'à des cas pathologiques extrêmes.

— Réactions de GROS et de WUHRMAN et WUNDERLY qui ne signent que des atteintes hépatiques presque expérimentales tellement elles sont profondes.

— La réaction de MAC LAGAN qui n'est positive que pour les très fortes augmentations de globulines γ . Nous n'avons rencontré ce cas que dans la leishmaniose du chien ; et il serait ainsi possible de faire la distinction entre les deux affections traduites par le formogel de GATÉ et PAPACOSTAS : leishmaniose et atteintes hépatiques.

γ) Trois réactions sont à retenir :

— Vitesse de sédimentation globulaire.

— Bande de coagulation de WELTMAN.

— La fiche réticulo-endothéliale à qui iront toutes nos préférences et dont le caractère expérimental actuel ne tardera pas à faire place à une application clinique journalière. Cette méthode, en effet, semble appelée à concurrencer et peut-être même remplacer l'électrophorèse trop longue et trop coûteuse même sous sa forme simplifiée d'électrophorèse papier qui nécessite un appareillage spécial d'exécution et de lecture.

CONCLUSIONS

1° Les réactions de sérologie non spécifique peu utilisées en médecine vétérinaire représentent des méthodes de diagnostic classiques en médecine humaine.

Leur mécanisme physico-chimique est exposé et discuté dans la première partie.

2° Les réactions de sérologie non spécifique utilisées en médecine humaine ne peuvent pas être directement extrapolées en médecine vétérinaire. En effet, si certaines ne nécessitent pas de modification,

- d'autres doivent être profondément réformées,
- d'autres enfin semblent inapplicables.

3° D'une manière générale, les deux réactions de sérologie non spécifique à retenir pour le diagnostic en médecine vétérinaire sont la réaction de WELTMAN et la fiche réticulo-endothéliale de SANDOR modifiée par VARGUES.

4° Dans les maladies aiguës infectieuses ou parasitaires aucune modification sérique importante ne peut être mise en évidence.

5° Dans les maladies infectieuses chroniques, ces réactions traduisent une augmentation des globulines α , et dans les maladies parasitaires chroniques, celle des globulines γ .

6° En immunologie, la fiche réticulo-endothéliale de SANDOR, semble être un moyen de dégrossissage préalable et économique du titrage *in vivo* des sérums antibactériens (sérum antirouget).

7° Ces résultats peuvent être retenus avec quelque certitude en raison de leur contrôle systématique par l'électrophorèse papier.

Vu : LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
GORET.

Vu : LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
PROFESSEUR L. JUNG.

Vu :
LE DOYEN
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,
A.-H. HERMANN.

Vu :
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE
PROFESSEUR SEDALLIAN.
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,

Vu et permis d'imprimer : Lyon, le 18 Février 1954.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

- ADNER (P.-L.). — On the use of Euglobulin precipitation in demonstrating disturbances of serum pattern. *Acta Soc. Med. Upsaliensis*, 1952, 56, 241.
- BAROTTE (J.) et GROSSET (R.). — Etude de l'Haptoglobine en médecine vétérinaire. *Bull. Acad. Méd.*, 1946, 19, 145.
- BEAUREAU (P.). — Utilisation d'un hémosédimètre angulaire à abaque pour la mesure de la vitesse de sédimentation sanguine chez le cheval et le bœuf. *Thèse Doct. Vétérinaire*, Lyon, 1953.
- BROCC, ROUSSEAU et ROUSSEL (G.). — Le sérum normal. Masson, édit., Paris, 1934.
- CUGUDDA (E.) et PITZUS (F.). — Quadro protéico e reazioni siero-colloïdali nelle varie modalita di evoluzione della tbc. polmonare. *Arch. Tisiol.*, 1952, 7, 213.
- FIESSINGER (N.), OLIVIER (H.-R.) et HERBAIN (M.). — Les diagnostics biologiques et fonctionnels. Malouine, éd., Paris, 1949.
- FUENTE-HITA (F.). — Etude comparative de la cadmium réaction de WUHRMAN et WUNDERLY avec la thermocoagulation de WELTMAN. *Ann. Biol. Clin.*, 1950, 4, 494.
- GOFFMAN (J.), LINDGREN (F.) et ELLIOT (H.). — Ultracentrifugal studies of lipo protens of human serum. *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 973.
- GURD (F.), OUCLEY (J.), EDSALL (J.) et COHN (E.). — The lipo-proteins of human plasma. *Dise. Faraday Soc.*, 1949, 30, 6.
- ROSS (H.) et GEMAR (F.). — Studies on serum proteins in leprosy : The alpha, beta and gamma globulin fractions. *Intern. J. Leprosy*, 1951, 19, 445-452.
- SANDOR (G.) et WEILL-FAGE. — Un nouveau test de physiopathologie : la fiche réticulo-endothéliale. *La Presse Médicale*, 1951, 3, 53.
- SANDOR (G.) et Mme WESLEY (Inès). — Un test humoral de l'activité sécrétoire de la cortico-surrénale. *C. R. Acad. Sc.*, 1953, 236, 332.

- SANDOR (G.) et Mlle LE BOT (Y.) — La fiche réticulo-endothéliale. Quelques remarques techniques et les paramètres du sérum normal. *Ann. Inst. Past.*, 1953, 85, 281.
- SANDOR (G.) et WEILL-FAGE (J.-C.). — La fiche réticulo-endothéliale. Les cinq types physio-pathologiques. *Ann. Inst. Past.*, 1951, 80, 287.
- SANDOR et S. DE MENDE. — Système globulinique du sérum et l'immunité. Etude électrophorétique des euglobulines et quelques considérations concernant leur nature. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1950, 32, 550.
- SANDOR (G.). — Systèmes globuliniques du sérum et l'immunité. L'euglobuline I₁ entité physico-chimique et physico-pathologique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1951, 33, 1.483.
- SANDOR (G.) et Mlle LE BOT (Y.). — La fiche réticulo-endothéliale. Les méthodes néphélométriques : les sérums de lapins et de cobayes. *Ann. Inst. Past.*, 1953, 84, 392.
- SANDOR (G.), Mmes WESLEY (Inès) et LE BOT (Y.). — Démonstration expérimentale de la signification physio-pathologique de la fiche réticulo-endothéliale. *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 1952, 136, 568.
- SANDOR (G.), LAGRUE, Mlles LE BOT (Y.) et SABETAY (Y.). — La fiche réticulo-endothéliale. Relation entre l'électrophorèse et les diagrammes de solubilité ; le fondement d'un diagnostic humoral objectif. *Ann. Inst. Past.*, 1953, 85, 645.
- SANDOR (G.) et WEILL-FAGE (J.-Ch.). — Un nouveau test de physio-pathologie : la fiche réticulo-endothéliale. *Ann. Inst. Past.*, 1950, 79, 130.
- VARGUES (R.). — Proposition d'une technique simplifiée pour l'établissement de la fiche réticulo-endothéliale de SANDOR. *Algérie Médicale*, février 1952, 2, 99.
- VARGUES (R.). — Propriétés non spécifiques d'un sérum de cheval hyperimmunisé (antipesteux). Importance de l'euglobuline I₁ de SANDOR. *Ann. Inst. Past.*, 1952, 83, 423.
- VARGUES (R.) et FABIANI (G.). — Etude sérologique de l'infection expérimentale du rat blanc par plasmodium berghei. La fiche réticulo-endothéliale de SANDOR et l'euglobuline I₁ de SANDOR. *C. R. Soc. Biol.*, 1952, 146, 1.161.
- VARGUES (R.). — Etude des relations entre les lipides et les protéines du sérum et nature des alpha et bêtaglobulines. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1952.

VARGUES (R.). — Euglobuline III, alphalipo-globuline de caractères chimiques définis. *C. R. Acad. Sc.*, 1951, 1, 1.146.

VARGUES (R.) et RAFFI (A.). — Intérêt de la fiche réticulo-endothéliale de SANDOR dans le diagnostic, le pronostic et le contrôle thérapeutique du Kala-Azar infantile. *Bull. Soc. path. exotique*, 1953, 46, 222.

TABLE DES MATIERES

Introduction	7
I. — Mécanisme physico-chimique des réactions de sérologie non spécifique	9
A. — Les constituants protéiques du sang, du plasma et du sérum	11
B. — Propriétés physico-chimiques des protéines sériques	15
C. — Principe des réactions de sérologie non spécifique	27
II. — Techniques des réactions de sérologie non spécifique	33
A. — Techniques classiquement utilisées en médecine humaine	35
B. — Techniques utilisées personnellement	43
III. — Résultats, discussion, applications des méthodes de sérologie non spécifique	57
A. — Résultats sur les sérums humains	59
B. — Résultats sur les sérums d'animaux en pathologie	63
C. — Résultats sur les sérums d'animaux en immunologie	71
D. — Résumé synoptique des résultats par espèce animale	75
E. — Discussion - Valeur des méthodes de sérologie non spécifique	79
Conclusions	81
Bibliographie	83

